

Forschungsberichte aus dem
wbk Institut für Produktionstechnik
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

Patrizia Konstanze Gartner

**Konzept eines Selbstheilungsmechanismus
für Polymerelektrolytmembranen**
Optimierung der Lebensdauer und der Effizienz
von Brennstoffzellen

Band 290

Forschungsberichte aus dem
wbk Institut für Produktionstechnik
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

Hrsg.: Prof. Dr.-Ing. Jürgen Fleischer
Prof. Dr.-Ing. Gisela Lanza
Prof. Dr.-Ing. habil. Volker Schulze
Prof. Dr.-Ing. Frederik Zanger

Patrizia Konstanze Gartner

**Konzept eines Selbstheilungsmechanismus
für Polymerelektrolytmembranen**
Optimierung der Lebensdauer und der Effizienz von
Brennstoffzellen

Band 290

**Konzept eines Selbstheilungsmechanismus
für Polymerelektrolytmembranen
Optimierung der Lebensdauer und der Effizienz von
Brennstoffzellen**

Zur Erlangung des akademischen Grades einer
Doktorin der Ingenieurwissenschaften (Dr.-Ing.)

von der KIT-Fakultät für Maschinenbau des
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

angenommene

Dissertation

von

Patrizia Konstanze Gartner, M.Sc.

Tag der mündlichen Prüfung: 05.11.2024
Hauptreferent: Prof. Dr.-Ing. Gisela Lanza
Korreferent: Prof. Dr.-Ing. Jürgen Hubbuch

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Karlsruhe, Karlsruher Institut für Technologie, Diss., 2024

Copyright Shaker Verlag 2025

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

Print-ISBN	978-3-8440-9781-8
PDF-ISBN	978-3-8440-9876-1
ISSN	2944-6430
eISSN	2944-6449
https://doi.org/10.2370/9783844098761	

Shaker Verlag GmbH • Am Langen Graben 15a • 52353 Düren
Telefon: 02421 / 99 0 11 - 0 • Telefax: 02421 / 99 0 11 - 9
Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

Vorwort des Herausgebers

Die schnelle und effiziente Umsetzung innovativer, nachhaltiger und wirtschaftlicher Technologien stellt den entscheidenden Wirtschaftsfaktor für produzierende Unternehmen dar. Universitäten können als "Wertschöpfungspartner" einen wesentlichen Beitrag zur Wettbewerbsfähigkeit der Industrie leisten, indem sie wissenschaftliche Grundlagen sowie neue Methoden und Technologien erarbeiten und aktiv den Umsetzungsprozess in die praktische Anwendung unterstützen.

Vor diesem Hintergrund wird im Rahmen dieser Schriftenreihe über aktuelle Forschungsergebnisse des Instituts für Produktionstechnik (wbk) am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) berichtet. Unsere Forschungsarbeiten beschäftigen sich mit der Leistungssteigerung von additiven und subtraktiven Fertigungsverfahren, den Produktionsanlagen und der Prozessautomatisierung sowie mit der ganzheitlichen Betrachtung und Optimierung von Produktionssystemen und -netzwerken. Hierbei werden jeweils technologische wie auch organisatorische Aspekte betrachtet.

Prof. Dr.-Ing. Jürgen Fleischer

Prof. Dr.-Ing. Gisela Lanza

Prof. Dr.-Ing. habil. Volker Schulze

Prof. Dr.-Ing. Frederik Zanger

Vorwort des Verfassers

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit am wbk Institut für Produktionstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT).

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr.-Ing. Gisela Lanza, die mich mit viel Vertrauen als Exotin in die Produktionswissenschaft aufgenommen hat. Ihre wertvolle Begleitung ermöglichte es mir, Produktion und Biotechnologie in zahlreichen Projekten miteinander zu verknüpfen. Das wbk war für mich nicht nur ein Ort der fachlichen Weiterentwicklung, sondern auch ein Trainee-Programm, das mir internationale Erfahrungen und wertvolle Soft Skills vermittelte. Ich danke Prof. Dr.-Ing. Jürgen Hubbuch für seine langjährige Unterstützung und Wegbereitung, besonders in der gemeinsamen Arbeit am Bio-Tag-Projekt. Weiter danke ich Prof. Dr.-Ing. Kai Furmans für den Prüfungsvorsitz.

Dem Karlsruher House of Young Scientists danke ich für die Förderung meines Forschungsaufenthalts am MIT, und Prof. Sang-Gook Kim für die wertvollen Einblicke und Perspektiven, die er mir vor Ort eröffnet hat.

Ein besonderer Dank geht an mein BioHealing-Team. Die interdisziplinäre Zusammenarbeit war für mich eine unvergessliche und bereichernde Erfahrung. Ich danke Prof. Stefan Bräse, Prof. Alexander Nesterov-Müller, Prof. Wilhelm Schabel sowie Mareen Stahlberger, Martina Plank, Nadine Zimmerer, Philipp Quarz, André Jung, Jens Rudat und Anke Neumann für ihren unermüdlichen Einsatz und die stetigen Impulse, die das Projekt vorangebracht haben. Ein herzliches Dankeschön geht an die Studierenden Maximilian Bilger, Till Eissler, Vanessa Zwinger, Tom Grünert, Ronja Mönch, Lisa Adami und Malte Schwarzer, die mit ihrer tatkräftigen Unterstützung maßgeblich zum Erfolg der Arbeit beigetragen haben.

Allen Kolleginnen und Kollegen des wbk danke ich für die unfassbare gemeinsame Zeit, die uns durch zahlreiche Erlebnisse und Herausforderungen zusammengeschweißt hat. Zuletzt danke ich meiner Mama, Jochen und Omama für ihre unerschütterliche Unterstützung, Motivation und die vielen wertvollen Ideen, die sie mir immer wieder gegeben haben.

Karlsruhe, 05. November 2024

Patrizia Konstanze Gartner

Abstract

The fuel cell is attracting considerable interest as a potential future energy converter, particularly in the automotive industry. It can be operated with high efficiency, emits no pollutants and is independent of fossil fuels. The vision is that the fuel cell of the future will not only be emission-free but will also develop its full potential in terms of sustainability. The fuel cell, which uses valuable materials in a complex production process, should be durable. In accordance with the principles of the circular economy, a self-healing mechanism for the polymer electrolyte membrane (PEM) is proposed in order to extend the service life of the fuel cell many times over and thus conserve resources and costs. The problem to be addressed is the currently unavoidable wear phenomenon, namely the formation of pinholes in the membranes of the fuel cell. These reduce the overall performance during operation and lead to the premature end of the fuel cell's life. Proton-conducting polymer membranes are particularly susceptible to pinholes, which are installed in low-temperature fuel cells (60-80°C) in vehicle applications. This includes the polymer electrolyte membrane fuel cell (PEMFC), which is the state of the art for commercial vehicle applications. Pinholes may occur during the production process or during operation. While the former can be avoided, the latter cannot currently be prevented during operation. Frequent start-up cycles, in particular, lead to pinholes during operation, as is the case in the automotive sector. This results in a continuous reduction in the performance of the fuel cell, which ultimately leads to its end of life. This motivates the investigation of self-healing mechanisms for pinholes in proton-conducting polymer membranes.

This dissertation presents a novel self-healing concept based on filler-forming enzymes attached to the membrane. In the event of a pinhole formation, a monomer is introduced externally and transported through the fuel cell until reaching the pinhole, where enzymes undergo polymerisation. The dissertation also presents the initial experimental results and evaluates the feasibility of the self-healing concept, as well as the potential for future research.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungen	V
Symbolverzeichnis	VII
1 Einleitung	1
1.1 Motivation und Problemstellung	1
1.2 Zielsetzung	5
1.3 Forschungsleitende Fragestellungen	6
1.4 Struktur der Arbeit	6
2 Grundlagen	7
2.1 PEMFC	7
2.1.1 Einordnung des Problems der Lebensdauer der PEMFC	7
2.1.2 Funktionsweise und Aufbau der PEMFC	10
2.1.3 Herstellverfahren der CCM	12
2.1.4 Charakterisierung der PEM	14
2.1.5 Pinholes und Degradationsmechanismen der PEM	17
2.2 Selbstheilungsmechanismen in Polymeren	22
2.2.1 Einleitung und Definition	22
2.2.2 Funktionsweise und Kategorisierung	23
2.3 Biotechnologische Grundlagen	27
2.3.1 Enzyme	27
2.3.2 Immobilisierung von Enzymen	33
2.3.3 Füllstoffherstellung per enzymatischer Polymerisation	38
2.3.4 Theorie der analytischen Methoden	45
3 Stand der Forschung	51
3.1 Anforderungen an den Lösungsansatz	51

3.2	Strategien zur Schadensbegrenzung der PEM	52
3.3	Ansätze zu Selbstheilungsmechanismen in Polymeren	54
3.4	Ansätze zu Selbstheilungsmechanismen in PEM	56
3.5	Übersicht Lösungsoptionen und Forschungsdefizit	58
4	Enzymatischer Selbstheilungsmechanismus für PEM	61
4.1	Konzeptausgestaltung	63
4.2	Gegenüberstellung des Konzeptes zu alternativen Konzepten	71
4.3	Experimentelle Zielstellungen	73
5	Experimentelle Ergebnisse der Phase I und Diskussion	75
5.1	Untersuchung der Enzymaktivität und -stabilität bei Betriebsbedingungen der PEMFC	76
5.1.1	Etablierung Methodik und Analytik	76
5.1.2	Einflüsse der PEMFC auf die Enzymaktivität und -Stabilität	81
5.1.3	Fazit	86
5.2	Untersuchung zweier Methoden zur Enzymimmobilisierung an Nafion™	88
5.2.1	Übertragbarkeit der Immobilisierungsmethode von PP an Nafion™	88
5.2.2	Immobilisierung über fluorophile Wechselwirkungen	88
5.2.3	Immobilisierung über selektive Peptidlinker	94
5.2.4	Fazit	98
5.3	Untersuchungen zur Füllstoffsynthese durch Enzyme	100
5.3.1	Charakterisierung von Lösungsmittelinteraktionen der Nafion™ Membran	101
5.3.2	Synthese eines fluorierten Carbonatmonomers	103
5.3.3	Polymerisation eines fluorierten Carbonats mit N435	104
5.3.4	Polymerisation eines fluorierten Carbonats mittels immobilisierter CRL an Nafion™ Membranen	114

5.3.5	Fazit	119
5.4	Methodenentwicklung zur Analyse des Selbstheilungseffektes	121
5.4.1	Methode zur Herstellung und Analyse künstlicher Pinholes	121
5.4.2	Aufbau zur Bestimmung der Dichtigkeit von Nafion™ Membranen	122
5.4.3	Fazit	125
6	Kritische Würdigung und Ausblick	126
6.1	Kritische Würdigung	126
6.2	Ausblick	130
7	Zusammenfassung	134
	Liste der eigenen Veröffentlichungen	I
	Literaturverzeichnis	III
	Abbildungsverzeichnis	XXXIX
	Tabellenverzeichnis	XLV
	Anhang	XLVI
A.	Materialien	XLVII
A.1	Verwendete Chemikalien, Gase und Enzyme	XLVII
A.2	Verwendete Geräte	XLVIII
A.3	Verwendete Verbrauchsmaterialien	L
A.4	Pufferlösungen	L
A.5	Enzymlösungen	LI
A.6	<i>para</i> -Nitrophenol-Acetat-Lösung	LI
A.7	F-Rhodamin-Linker Lösung	LII
A.8	Kurzkettige Fluor-Tag Lösungen	LII
B.	Experimentelle Methoden	LIII
B.1	Herstellung verschiedener verwendeter Membrandurchmesser	LIII
B.2	Immobilisierung von Lipasen an Polypropylen	LIII
B.3	Optimierung und Charakterisierung der Enzymimmobilisierung an PP	LIV

B.4	Einfluss der Herstellungs- und Betriebsbedingungen auf Immobilisate	LV
B.5	Funktionalisierung der Nafion™ Membran mittels F-Rhodamin-Linker	LVI
B.6	Bestimmung der Affinität der F-Rhodamin-Linker zur Nafion™ Membran	LVI
B.7	Funktionalisierung der Nafion™ Membran mittels kurzkettiger Fluor-Tags	LVI
B.8	Enzymanbindung per Carbodiimid	LVII
B.9	Optimierung und Charakterisierung der Enzymimmobilisate an Nafion™ mittels kurzkettiger Fluor-Tags	LVIII
B.10	Immobilisierung der CRL an Nafion™ Membranen für Polymerisationsversuche	LVIII
B.11	Lösungsmittel-Interaktion mit Nafion™ Membran	LIX
B.12	Substratsynthese: 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on	LIX
B.13	Enzymatische Polymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on mit N435	LX
B.14	Chemische Polymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on	LX
B.15	Enzymatische Polymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on mit immobilisierter CRL auf Nafion™	LXI
B.16	Herstellung künstlicher Pinholes	LXI
B.17	Aufbau zur Bestimmung der Dichtigkeit von Nafion™ Membranen	LXII
C.	Messungen & Analytische Methoden	LXV
C.1	Quantifizierung der Enzymaktivität per <i>p</i> -NPA Assay	LXV
C.2	Fluoreszenzmikroskopie	LXV
C.3	NMR-Spektroskopie	LXV
C.4	Größenausschlusschromatographie (SEC)	LXVI
C.5	Differenzkalorimetrie (DSC) und Thermogravimetrische Analyse (TGA)	LXVI
C.6	Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometrie (ToF-SIMS)	LXVII
D.	Weitere Ergebnisse	LXVIII
E.	Auszeichnungen des Projektes BioHealing	LXX

Abkürzungen

Abkürzung	Beschreibung
Ads.	Adsorptiv
Äq.	Äquivalent
BEV	Batterieelektrisch-betriebenes Fahrzeug (engl. battery electric vehicle)
BLT-2	Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik 2, KIT
BPP	Bipolarplatten
C-F	(Per-)Fluorkohlenstoffe
C-H	Kohlenwasserstoffe
CD&E	Konzeptentwicklung und Experimente (engl. Concept Development & Experimentation)
CALB	<i>Candida antarctica</i> Lipase B (Enzym)
CCM	Katalysatorbeschichtete Membran (engl. catalyst coated membrane)
CRL	<i>Candida rugosa</i> Lipase (Enzym)
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid (Kupplungsreagenz)
DCM	Dichlormethan (Lösungsmittel)
DIC	Diisopropylcarbodiimid (Kupplungsreagenz)
DMF	Dimethylformamid (Lösungsmittel)
DMFC	Direktmethanolbrennstoffzelle
DSC	Differenzkalorimetrie (engl. differential scanning calorimeter)
EC	Enzymklasse (engl. enzyme commission number)
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid (Kupplungsreagenz)
EtOAc	Ethylacetat (Lösungsmittel)
EU	Europäische Union
EW	Äquivalenzgewicht (engl. equivalent weight)
FCEV	Brennstoffzellenfahrzeug (engl. fuel cell electric vehicle)
GDL	Gasdiffusionslagen (engl. gas diffusion layer)
GC%	Gaskonzentration
Gew.-%	Gewichtsprozent
HFIP	Hexafluorisopropanol (Lösungsmittel)
IBCS	Institut für Biologische und Chemische Systeme, KIT
ICM	InnovationsCampus Mobilität der Zukunft
IMT	Institut für Mikrostrukturtechnik, KIT
IOC	Institut für Organische Chemie, KIT
KIT	Karlsruher Institut für Technologie
LKW	Lastkraftwagen
MALDI-ToF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time-of-Flight
MEA	Membran-Elektroden-Einheit (engl. membrane electrode assembly)

Mio.	Millionen
N435	Novozym® 435 (Enzym)
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie (engl. nuclear magnetic resonance)
ÖPNV	Öffentlicher Personennahverkehr
PBS	Phosphatpuffer (engl. phosphate buffer saline)
PEM	Polymerelektrolytmembran
PEMEL	Polymerelektrolytmembran-Elektolyseur
PEMFC	Polymerelektrolytmembran-Brennstoffzellen (engl. polymer electrolyte membrane fuel cell bzw. proton exchange membrane fuel cell)
PFAS	Per- und polyfluorierte Alkylsubstanzen
PKW	Personenkraftwagen
<i>p</i> -NPA	<i>para</i> -Nitrophenol-Acetat
PP	Polypropylen
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVA	Polyvinylalkohol
PVDF	Polyvinylidenfluorid
RI	Brechungsindex (engl. refraction index)
ROP	Ringöffnungspolymerisation
SEC	Größenausschlusschromatographie (engl. size exclusion chromatography)
TBD	Triazabicyclodecen (chemischer Katalysator)
TCO	Gesamtbetriebskosten (engl. total costs of ownership)
ToF-SIMS	Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometrie (engl. Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry)
THF	Tetrahydrofuran (Lösungsmittel)
UV	Ultraviolett
WIWHCW	Peptid mit Aminosäuresequenz: Tryptophan-Isoleucin-Tryptophan-Histidin-Cystein-Tryptophan (Trp-Ile-Trp-His-Cys-Trp)

Symbolverzeichnis

Formelzeichen	Größe	Einheit
\subseteq	Teilmenge	-
c	Konzentration	[mol/L]
$c(A), c(B), c(AB)$	Konzentration der Moleküle A, B, AB	[mol/L]
-	CO ₂ -Emissionen	[kgCO ₂ _äq /100 km]
δ	chemische Verschiebung	[ppm]
D	Durchmesser	[nm], [μ m], [mm]
DP	Polymerisationsgrad	-
ΔG	Gibbs-Energie	[J]
ΔH	Enthalpie	[J]
ΔS	Entropie	[J/K]
$[E]$	Enzym	-
$[ES]$	Enzym-Substrat-Komplex	-
1H	Wasserstoff-1-Kern	-
I_p / I_b	Relative Fluoreszenzintensität	-
K_d	Dissoziationskonstante	[mol/L]
m	Masse	[g]
m_i	Masse der Komponente i	
M	Molmasse	[g/mol] oder [Da]
M_i	Molmasse der Komponente i	[g/mol] oder [Da]
M_n	Zahlenmittlere Molmasse	[g/mol] oder [Da]
M_w	Gewichtsmittlere Molmasse	[g/mol] oder [Da]
n	Stoffmenge	[mol]
n_{H_2}	Stoffmenge an Wasserstoff	[mol]
n_i	Stoffmenge der Komponente i	[mol]
p	Druck	[atm] = 1,013 bar
PDI	Polydispersität	-
$[P]$	Produkt	-
R	Universelle Gaskonstante	[J/mol*K]
$[S]$	Substrat	-
t	Zeit	[s], [min], [h], [d]
T	Temperatur	[°C]
T_c	Kritische Temperatur	[°C]
T_{deg}	Zersetzungstemperatur eines Polymers	[°C]
T_g	Glasübergangstemperatur eines Polymers	[°C]
T_k	Kristallisationstemperatur eines Polymers	[°C]
T_m	Schmelztemperatur eines Polymers	[°C]

T_{opt}	Temperaturoptimum eines Enzyms	[°C]
U	Unit	[μmol Substrat/min]
-	Umdrehungen pro Minute	[U/min]
ν	Frequenz	[Hz]
V	Volumen	[μL], [mL], [L]
w_i	Massenanteil der Komponente i	-
x_i	Stoffmengenanteil der Komponente i	-

1 Einleitung

1.1 Motivation und Problemstellung

Eine der größten Herausforderungen dieses Jahrhunderts ist der Klimawandel und seine Folgen. Die Europäische Union hat mit dem *Green Deal* beschlossen, bis 2050 klimaneutral zu werden und das Treibhausgasminderungsziel für 2030 von – 40 % auf – 55 % gegenüber 1990 zu erhöhen (European Commission 2019). Auch Japan¹ und China² streben die Klimaneutralität bis 2050 bzw. 2060 an. Emissionsfreie und energieeffiziente Technologien zur Erzeugung, Speicherung und Nutzung von Energie sind entscheidend für die Erreichung der Klimaneutralität. Der Mobilitätssektor spielt eine zentrale Rolle, der Straßenverkehr in der EU ist derzeit für etwa 26 % der gesamten CO₂-Emissionen verantwortlich³. Die Entscheidung der EU, ab 2035 ausschließlich Fahrzeuge mit null CO₂-Emissionen für neue PKW und leichte Nutzfahrzeuge zuzulassen, erhöht den Innovationsdruck in der Automobilindustrie (European Parliament 2023).

Emissionsfreie Mobilitätslösungen umfassen batterieelektrisch-betriebene Fahrzeuge (BEV), Brennstoffzellenfahrzeuge (FCEV) und e-fuels. Während BEV zunehmend an Popularität gewinnen, stellen FCEV eine Nische dar. Unter Experten besteht Einigkeit, dass die Energiewende ohne den Einsatz von Brennstoffzellen nicht zu realisieren ist⁴. Die Brennstoffzelle wandelt gespeicherte chemische Energie in Form von Wasserstoff in elektrische Energie um. Als Nebenprodukte werden dabei ausschließlich Wasser und Wärme produziert. Im Gegensatz zu anderen Antriebsarten ist die Brennstoffzelle vollständig frei von Treibhausgasen und Luftschadstoffen. Brennstoffzellen sind vielversprechend in Anwendungen, bei denen es auf Zuverlässigkeit, große Reichweite und ein geringes Gewicht ankommt, wie dies in Schwerlastern, Nutzfahrzeugen, Militärfahrzeugen und Binnenschiffen der Fall ist. In PKW, ÖPNV oder Logistikanwendungen können FCEV zudem die BEV beim Wandeln hin zur emissionsfreien Mobilität unterstützen. (BMW 2020)

¹<https://www.theguardian.com/world/2020/oct/26/japan-will-become-carbon-neutral-by-2050-pm-pledges>, 18.04.2024

² <https://www.bbc.com/news/science-environment-54256826>, 18.04.2024

³ <https://www.enbw.com/unternehmen/eco-journal/e-lkw-ladestationen.html>, 18.04.2024

⁴ <https://weltwoche.ch/story/ist-wasserstoff-die-zukunft-der-mobilitaet/>, 18.04.2024

Bis August 2022 waren weltweit etwa 43.000 Wasserstoff-PKW im Einsatz, davon 1.450 in Deutschland, sowie 61 schwere Nutzfahrzeuge und Busse mit Brennstoffzellenantrieb (Jenne et al. 2022). Der Bestand stieg zum 1. Februar 2023 auf 2.220 Wasserstoff-PKW in Deutschland ⁵. In der EU wurden im Jahr 2021 ca. 1.000 PKW-Neuzulassungen mit Brennstoffzellen registriert, während es im Vorjahr lediglich 760 waren, siehe Abbildung 1-1 ⁶.

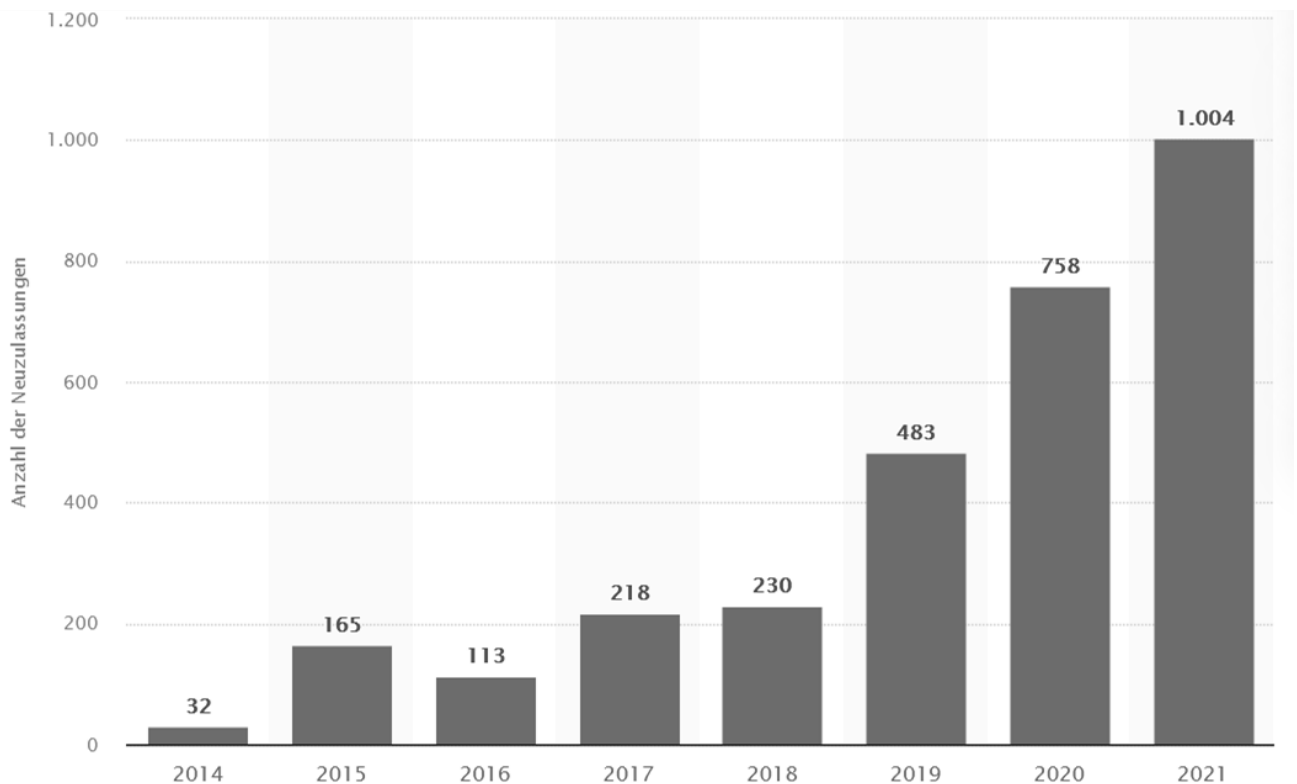


Abbildung 1-1: Neuzulassungen von PKW mit Brennstoffzellenantrieb in der Europäischen Union von 2014 bis 2021 (Statista 2024).

Eine Studie zur Marktentwicklung von Mordor Intelligence prognostiziert eine jährliche Wachstumsrate von Brennstoffzellenfahrzeugen in der EU von über 31 % zwischen 2023 und 2028 ⁷. Gegenwärtig erfolgt seitens Deutschlands der Aufbau eines Wasserstoffkernnetzes, wobei insbesondere die Landesregierung Baden-Württemberg den

⁵ https://www.now-gmbh.de/wp-content/uploads/2023/02/KBA_Report_01-2023.pdf, 18.04.2024

⁶ <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/1197284/umfrage/neuzulassungen-von-pkw-mit-brennstoffzelle-in-der-eu/>, 18.04.2024

⁷ <https://www.mordorintelligence.com/de/industry-reports/europe-fuel-cell-market-industry>, 18.04.2024

Beirat Wasserstoff-Roadmap ins Leben gerufen hat ⁸. Die dargelegten Daten und Fakten unterstreichen die wachsende Bedeutung der Wasserstoffwirtschaft sowie der Brennstoffzelle für die Mobilität der Zukunft.

Ein wesentliches Problem der Brennstoffzellentechnologie ist der mit der Zeit einhergehende Leistungsabfall der Brennstoffzelle. Der Zustand der Polymerelektrolytmembran (PEM), welche die Kernkomponente der Polymerelektrolytmembran-Brennstoffzelle (PEMFC) darstellt, hat einen entscheidenden Einfluss auf die Leistung sowie die Lebensdauer der Zellen (Büchi et al. 2009; Devanathan 2008; Liu et al. 2019; Xing et al. 2021). Das Versagen der PEM wird als einer der Hauptgründe für die Beeinträchtigung der Lebensdauer von PEMFCs angesehen (Xing et al. 2021).

Im Betrieb der PEMFC kommt es zu diversen Degradationsmechanismen, welche zu Defekten in der Membran führen. Diese Defekte werden als *Pinholes* bezeichnet (engl. für Nadellöcher). Die Leistung der PEMFC fällt dadurch kontinuierlich ab. Dieses Phänomen ist eine Verschleißerscheinung und ist unvermeidlich. Pinholes stellen lediglich den Anfang eines längeren Alterungsprozesses der Membran dar. Selbst ein einziges Pinhole kann bereits Auswirkungen auf die Leistung haben (Weber 2008).

Die verschiedenen Belastungszyklen in Fahrzeuganwendungen beschleunigen die Degradation, die Pinholes wachsen und führen zum Funktionsverlust der PEMFC, der sich zunächst in einem Leistungsabfall und schließlich dem frühzeitigen Lebensende der Anwendung bemerkbar macht. Des Weiteren besteht ein Sicherheitsrisiko, da eine der wesentlichen Funktionen der Membran die Trennung der Gase Wasserstoff und Sauerstoff ist. Bei Defekten in der Membran ist eine Trennung nicht möglich, wodurch die Gefahr einer Knallgasreaktion zwischen Wasserstoff und Sauerstoff besteht. Sobald ein Leistungsabfall von 10 % gegenüber der Ausgangsleistung vorliegt, ist das Lebensende der PEMFC erreicht (Bonitz 2016; Mayr et al. 2021). Um die Lebensdauer und Effizienz von PEMFCs zu steigern, ist die Untersuchung des Pinhole-Problems von entscheidender Bedeutung. Die effektive Kommerzialisierung der PEMFC erfordert die Erreichung der angestrebten Lebensdauerziele sowie die Funktionsfähigkeit unter einer Vielzahl von Betriebsbedingungen (Schmittinger & Vahidi 2008).

⁸ <https://um.baden-wuerttemberg.de/de/energie/energiewende/wasserstoffwirtschaft>, 18.04.2024

Es existieren bereits Ansätze, die darauf abzielen, die Lebensdauer zu erhöhen. Einerseits kann ein robusteres Membranmaterial entwickelt werden, wodurch zwar die Membrandegradation verzögert, der Verschleiß auf lange Sicht nicht verhindert werden kann. Andererseits weisen veränderte Membranmaterialien andere Eigenschaften auf. Andererseits kann die Betriebsstrategie der PEMFC im Feld optimiert werden. Eine weitere Möglichkeit stellt die Anwendung von Kreislaufkonzepten für die PEMFC dar. Für eine defekte Membran eignet sich jedoch lediglich das Recycling, um Rohmaterialien zurückzugewinnen.

Eine langfristig nachhaltige Option ist die Modifikation des Membranmaterials durch einen Selbstheilungsmechanismus, der Pinholes verschließt. Dadurch kann die Verschleißfestigkeit des Materials erhöht werden. Selbstheilende Materialien sind in der Lage, Defekte, die durch mechanische oder umweltbedingte Belastungen verursacht werden, selbst zu reparieren (Wan et al. 2023). Die Anwendung der Selbstheilung in der Technik wird als vielversprechend prognostiziert. Wegener et al. (2023) demonstrieren in einem *Gartner Hype Cycle* die vielseitigen Potenziale der Selbstheilung als zukunftssträchtige Technologie, um die Lebensdauer von Produkten zu verlängern.

Die Entwicklung einer selbstheilenden Membran für PEMFC könnte zu einer signifikanten Verlängerung der Lebensdauer der PEMFC sowie zu einer Erhöhung der Effizienz über den Zeitraum führen. Abbildung 1-2 veranschaulicht dies schematisch. Die schwarze Kurve demonstriert den Leistungsverlust über die Lebensdauer einer konventionellen PEMFC bis zum Lebensdauerende bei 10 % Leistungsabfall. Die gelbe Kurve veranschaulicht die Auswirkungen der Selbstheilungszyklen auf die Leistung der PEMFC. Im Falle eines Selbstheilungszyklus werden Pinholes in der Membran versiegelt, sodass die Membran wieder ihre Funktion als Separator erfüllen kann. Eine funktionsfähige Membran wirkt sich somit positiv auf die Leistung der PEMFC aus. Durch die wiederholte Durchführung von Selbstheilungszyklen kann der Leistungsabfall über die Zeit hinausgezögert werden, was zu einer Verlängerung der Lebensdauer im Vergleich zu einer konventionellen PEMFC führt. Der Anteil, um den die Leistung der PEMFC länger aufrechterhalten bleibt, muss in späteren Studien ermittelt werden, die über diese Arbeit hinausgehen. Die verlängerte Lebensdauer einer PEMFC ermöglicht eine Einsparung von Investitionskosten und Ressourcen für eine neue PEMFC. Dies resultiert in einer Reduktion der Gesamtbetriebskosten (engl. total cost of ownership, kurz TCO). Des Weiteren führt eine funktionsfähige PEMFC zu einer Reduktion des

Wasserstoffverbrauchs im Vergleich zu einer beschädigten PEMFC, was ebenfalls die TCO positiv beeinflusst.

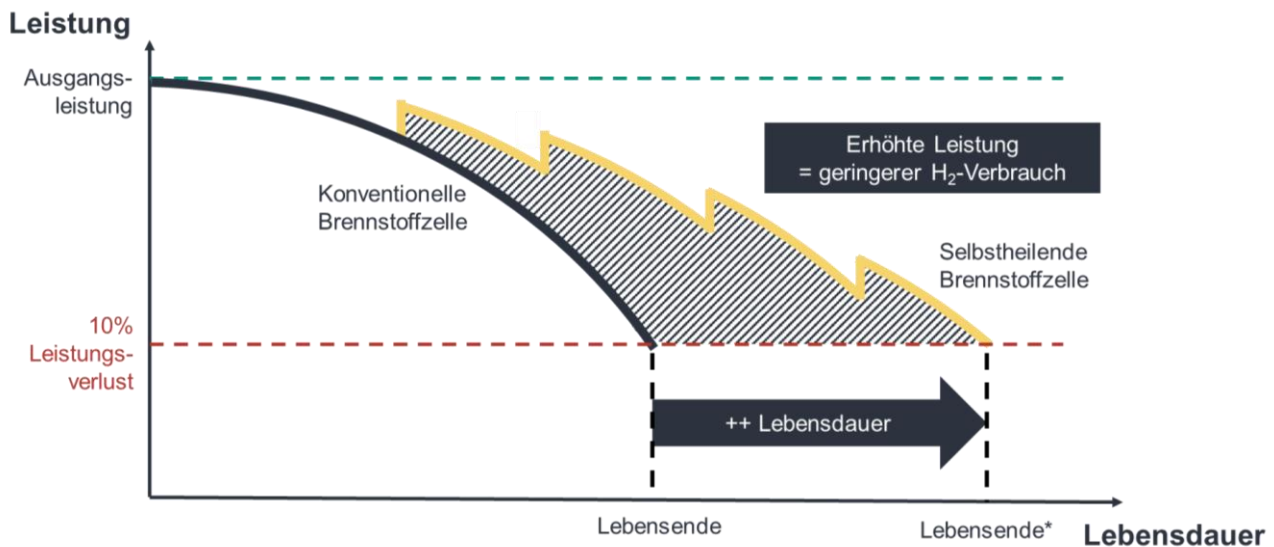


Abbildung 1-2: Schematische Darstellung des Zusammenhangs der Leistung und der Lebensdauer einer konventionellen und selbstheilenden PEMFC.

1.2 Zielsetzung

Die vorliegende Dissertation verfolgt das Ziel, einen Selbstheilungsmechanismus für Membranen von Polymerelektrolytmembran-Brennstoffzellen (PEMFC) zu konzipieren. Der Selbstheilungsmechanismus basiert auf einem biotechnologischen Verfahren, bei dem Enzyme zum Einsatz kommen. In einem Selbstheilungszyklus katalysieren die Enzyme eine Polymerisationsreaktion, deren Reaktionsprodukt ein polymerer Füllstoff ist. Der Füllstoff hat die Funktion, die vorhandenen Pinholes in der Membran zu verschließen. Neben der Konzeptionierung des enzymatischen Selbstheilungsmechanismus sollen erste experimentelle Untersuchungen Aufschluss über die Machbarkeit der Vision der selbstheilenden Membran für PEMFC geben.

1.3 Forschungsleitende Fragestellungen

Im Zuge der Ausgestaltung des Selbstheilungsmechanismus für die Membranen der PEMFC sollen folgende forschungsleitenden Fragestellungen beantwortet werden:

- 1. Wie kann der Füllstoff gezielt an den Pinholes positioniert werden?*
- 2. Welche Enzyme sind für die Synthese des Füllstoffs geeignet?*
- 3. Wie gelangen die Enzyme an die Pinholes?*
- 4. Welche Polymere sind geeignete Füllstoffe für die Membran?*
- 5. Wie haftet der Füllstoff in den Pinholes?*

1.4 Struktur der Arbeit

Die vorliegende Arbeit ist wie folgt strukturiert: In Kapitel 2 werden die für das Thema relevanten Grundlagen aus den Bereichen PEMFC, Selbstheilung und Biotechnologie erläutert. Kapitel 3 präsentiert den aktuellen Forschungsstand in Bezug auf das Thema der Dissertation. In Kapitel 4 wird der eigene Ansatz dieser Dissertation dargelegt. Die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen werden in Kapitel 5 präsentiert und diskutiert. In Kapitel 6 erfolgt eine Bewertung der Forschungsarbeit sowie ein Ausblick auf weitere Untersuchungspotenziale. Die Arbeit wird abschließend in Kapitel 7 zusammengefasst.

2 Grundlagen

Das Kapitel dient dem Verständnis der Arbeit in Bezug auf PEMFC (Kapitel 2.1) und Selbstheilungsmechanismen in Polymeren (Kapitel 2.2) und erläutert die wichtigsten biotechnologischen Grundlagen und Methoden (Kapitel 2.3), die für die Umsetzung des Selbstheilungsmechanismus angewendet werden.

2.1 PEMFC

Zunächst soll ein grundlegendes Verständnis von PEMFCs vermittelt werden. Hierbei wird das Problem der begrenzten Lebensdauer erläutert, die Funktionsweise der PEMFC und insbesondere der Membran beschrieben sowie die Ursachen der Pinhole-Bildung erklärt, die zur begrenzten Lebensdauer führen.

2.1.1 Einordnung des Problems der Lebensdauer der PEMFC

PEMFCs stellen eine Basistechnologie für die Mobilität dar und tragen essenziell dazu bei, die gesetzlichen und ökologischen Anforderungen zu erfüllen. Die breite Kommerzialisierung von PEMFCs steht jedoch vor einigen Herausforderungen. Die genannten Herausforderungen betreffen in erster Linie Fragen der Verfügbarkeit von erschwinglichem, klimaneutrale Wasserstoff als notwendigem Brennstoff, Fragen der Kosten und Fragen der Lebensdauer der PEMFC (vgl. Abbildung 2-1).

Nachhaltiger H ₂	Kosten	Lebensdauer & TCO
Verfügbarkeit durch Infrastrukturausbau steigern	Materialkosten reduzieren durch Upscaling	Lebensdauer erhöhen um Nachhaltigkeit zu steigern und Kosten zu senken (TCO)

Abbildung 2-1: Herausforderungen und Lösungsansätze der PEMFC Technologie im Bereich der Mobilität.

Im Folgenden werden die Herausforderungen und Lösungsansätze im Einzelnen erörtert. Eine erste Herausforderung ist die Verfügbarkeit von kostengünstigem, klimaneutrale Wasserstoff. Die Verwendung von sogenanntem weißem und grünem Wasserstoff ist ökologisch und wirtschaftlich nachhaltig. Weißer Wasserstoff bezeichnet Wasserstoff, der aus natürlichen Vorkommen stammt und nicht produziert werden muss. Er

bildet sich kontinuierlich durch geochemische Reaktionen in geologischen Formationen und ist somit eine ständig nachwachsende Ressource. Die Nutzung von weißem Wasserstoff ist derzeit noch begrenzt. Er gewinnt jedoch als kostengünstige, kohlenstofffreie Energiequelle weltweit an Bedeutung, und die Suche nach Vorkommen in Australien, Spanien, Frankreich und den USA wird intensiviert ⁹. Grüner Wasserstoff wird durch Elektrolyse aus erneuerbaren Energien gewonnen. Die CO₂-Emissionen von Brennstoffzellenfahrzeugen (FCEV) sind lediglich niedriger als die von Batterieelektrischen (BEV), sofern der Wasserstoff regenerativ erzeugt wird ¹⁰:

- FCEV Fertigung 4 kg_{CO₂_äq}/100 km, Herstellung grüner H₂ 2,4 kg_{CO₂_äq}/100 km
- BEV Fertigung 4 kg_{CO₂_äq}/100 km, Stromverbrauch 3 kg_{CO₂_äq}/100 km

Die Verfügbarkeit von klimaneutralem Wasserstoff ist von Marktentwicklungen, dem Ausbau der Infrastruktur und von politischen Entscheidungen abhängig.

Die zweite Herausforderung betrifft die Kosten. FCEVs weisen im Vergleich zu BEVs höhere Kapital- und Betriebskosten auf, wobei aktuelle Modelle etwa doppelt so teuer sind (Staffell et al. 2019). Der Listenpreis eines PEMFC Systems ist stark vom Produktionsvolumen abhängig. Die RWTH Aachen hat ein Kostenkalkulationsmodell für PEMFC Systeme entwickelt. Der darin berechnete Listenpreis umfasst die Herstellkosten, Materialkosten sowie sonstige Unternehmenskosten und liegt derzeit zwischen 582 €/kW für 500, 395 €/kW für 30.000 und 315 €/kW bei 750.000 PEMFC Systeme pro Jahr. Der Preis für 30.000 PEMFC Systeme pro Jahr entspricht dem von Toyota für das Jahr 2020 angekündigten Wert ¹¹. Dabei machen allein die Materialkosten 60-70 % der Produktionskosten aus (Kampker et al. 2023). Insbesondere die Verwendung von Platinkatalysatoren ist kostenintensiv. Der Platinanteil in PEMFCs wurde in den letzten zehn Jahren bereits um 90 % reduziert und weitere Reduktionen werden prognostiziert (Pagliaro & Meneguzzo 2019). Parallel dazu wird ein weltweites Marktwachstum erwartet. Bis 2030 planen die USA allein in Kalifornien eine Million FCEVs auf den Markt zu bringen (California Fuel Cell Partnership 2018), während China ebenfalls eine Million, Japan 0,8 Millionen und Südkorea 0,6 Millionen FCEVs anstreben (Staffell et al. 2019).

⁹<https://www.rystadenergy.com/news/white-gold-rush-pursuit-natural-hydrogen>, 23.05.2024

¹⁰https://www.kopernikus-projekte.de/lw_resource/datapool/systemfiles/cbox/2378/live/lw_dati/fcn__2022__vergleich_von_wasserstoff_und_elektromobilit-C3-A4t_final_02.pdf, 23.05.2024

¹¹ <https://fuelcellworks.com/news/toyota-motor-corp-increase-production-capacity-for-fuel-cell-vehicles-tenfold/>, 17.06.2024

Die Marktentwicklungen und die damit verbundene Skalierung der Produktion sowie technische Lösungen zur Reduzierung des Platinanteils sind die wesentlichen Treiber für die Senkung der Produktionskosten. Zusammen mit einer erhöhten Massenproduktion von FCEVs könnte bis 2030 eine Kostenparität mit BEVs erreicht werden (Staffell et al. 2019).

Die dritte Herausforderung umfasst die Leistung und Lebensdauer der PEMFC und die damit verbundenen Gesamtbetriebskosten (Pollet et al. 2019; Yue et al. 2021). Im Gegensatz zu den beiden anderen Herausforderungen können Leistung und Lebensdauer der PEMFC unabhängig von Markt und Politik, durch technischen Fortschritt, verbessert werden. Das Ende der Lebensdauer einer PEMFC ist als das Ende ihrer Betriebsdauer definiert. Dies ist gegeben, wenn die Leistung der PEMFC um 10 % gegenüber der Ausgangsleistung sinkt (Mayr et al. 2021). Im Jahre 2020 betrugen die Lebensdauervorgaben für PEMFC für leichte Nutzfahrzeuge 5.000 h mit der akzeptierten irreversiblen Leistungsabnahme von 10 %, die Vorgabe für das Jahr 2030 liegt bei 8.000 h (entspricht 240.000 km)¹². Diese Zielvorgabe für die Lebensdauer ist vergleichbar mit den Standards der auf dem Markt befindlichen Verbrennungsmotoren. Bei schweren Nutzfahrzeugen liegen die Lebensdauervorgabe mit 25.000-30.000 h deutlich höher. Bisher erreicht wurden allerdings maximal 19.000 h in Bussen mit PEMFC Antrieb. (Mayr et al. 2021)

Folgende Gründe motivieren eine Verlängerung der Lebensdauer:

- 1) Eine höhere Lebensdauer wirkt sich positiv auf die Gesamtbetriebskosten (TCO) aus. Die Ineffizienz lässt die TCO ansteigen. Besonders bei Anwendungen im Schwerlastbereich sind 80 % der TCO variable Kosten, wozu Wasserstoffkosten, Wartungskosten sowie Ausfallzeiten für den Tausch der PEMFC zählen (Gnann et al. 2017).
- 2) Hinzu kommen die Investitionskosten und benötigten Ressourcen für eine neue PEMFC.
- 3) Im ökologischen Sinne ist es das Ziel Produkte möglichst lange zu nutzen, um Ressourcen einzusparen (Wasserstoffverbrauch, Material zur PEMFC Herstellung).

¹² <https://www.energy.gov/eere/fuelcells/doe-technical-targets-fuel-cell-systems-and-stacks-transportation-applications>, 24.05.2024

Aus wirtschaftlichen und ökologischen Gründen ist es daher unabdingbar, eine hohe Lebensdauer bei hoher Leistung der PEMFC zu erreichen. Die beschränkte Lebensdauer der PEMFC wird in der Literatur sogar als das größte verbleibende Problem angesehen, das eine effektive Kommerzialisierung der Anwendungen im stationären Bereich und im Transportwesen behindert. (Borup et al. 2006; Chen et al. 2018)

2.1.2 Funktionsweise und Aufbau der PEMFC

Die PEMFC gilt als Stand der Technik für kommerzielle Fahrzeuganwendungen (Klell et al. 2018; Kurzweil 2013; Mekhilef et al. 2012; Töpler & Lehmann 2017). PEMFCs sind kompakt, leicht und weisen eine hohe Leistungsdichte auf. Dank ihrer schnellen Reaktionszeit können sie innerhalb von Sekunden nach dem Einschalten elektrische Energie bereitstellen (Subianto et al. 2013).

Für die Reaktion bedarf es die Elektroden: Kathode und Anode sowie einen Elektrolyten. Als Brennstoff wird Wasserstoff und als Oxidationsmittel Sauerstoff verwendet. PEMFCs wandeln chemische Energie in elektrische Energie um und erzeugen dabei Wasser und Wärme als Nebenprodukte (Boudghene Stambouli & Traversa 2002; Lehmann 2014; Rapp et al. 2012; Töpler & Lehmann 2017). Ihr theoretischer Wirkungsgrad liegt bei über 80 %, welcher höher ist als der von klassischen Wärmekraftprozessen, wie z.B. bei Verbrennungsmotoren (Barbir 2013). Folgende Abbildung 2-2 zeigt die Funktionsweise der PEMFC. Die Reaktion erfolgt, indem die Anode Wasserstoff und die Kathode Sauerstoff aus der Luft aufnimmt. Der Elektrolyt ist eine Polymermembran. Die Membran übernimmt bei der Reaktion folgende Aufgaben: Sie ist ein Separator zwischen Anode und Kathode und verhindert den Durchgang von Elektronen und trennt die Gase Wasserstoff und Sauerstoff voneinander. Die Verwendung einer gasdichten Membran ist von essentieller Bedeutung, um eine Knallgasreaktion zu verhindern. Eine Knallgasreaktion kann auftreten, wenn sich größere Mengen von Wasserstoff und Sauerstoff miteinander vermischen. Eine Knallgasreaktion hat eine zerstörerische Wirkung auf die PEMFC und muss daher mit größter Sorgfalt vermieden werden. Außerdem fungiert die Membran als Elektrolyt, d.h. sie ermöglicht den Transport der frei-werden-den Protonen durch die Membran. Das funktioniert nur bei ausreichender Befeuchtung der Membran. Idealerweise sollte die Membran 30 Gew-% Wasser enthalten. (Lehmann 2014)

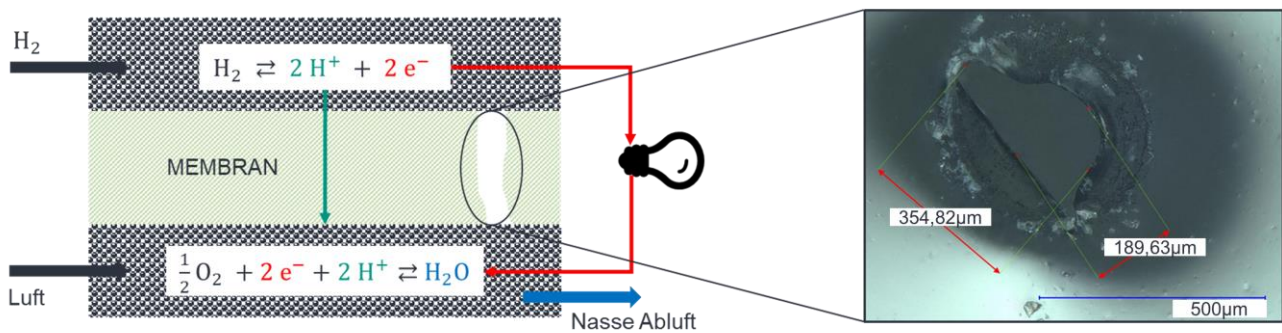


Abbildung 2-2: Funktionsweise einer PEMFC mit vorhandenem Pinhole, angelehnt an Lehmann (2014).

An der Oberfläche der Anode erfolgt die Oxidation des einströmenden Wasserstoffs (H_2) unter Freisetzung von zwei Elektronen (e^-) gemäß Gleichung 2.1



Die Elektronen werden durch einen elektrischen Leiter zur Kathode transportiert, wodurch elektrische Energie freigesetzt wird. Die freigesetzten Protonen (H^+) wandern durch die Membran und erreichen die Kathodenseite. Dort erfolgt die Reduktion des Sauerstoffs unter Wärmeabgabe gemäß Gleichung 2.2. Das ionisierte Sauerstoffmolekül (O^{2-}) reagiert unmittelbar mit zwei Protonen zu Wasser (H_2O) gemäß Gleichung 2.3. Das entstandene Wasser wird abgeführt.



Für die Ausgestaltung des Selbstheilungsmechanismus sind die folgenden Betriebsbedingungen der PEMFC wichtige Rahmenbedingungen. Die Betriebsbedingungen der PEMFC variieren je nach Leistungsbedarf, die Membran ist dabei von folgenden Parametern umgeben. (Töpler & Lehmann 2017)

- $T = 60-80 \text{ }^\circ\text{C}$
- pH-Wert 3
- $p = 1 \text{ atm}$
- Wasseranteil in der Membran 30 Gew-%

Der Aufbau der PEMFC wird in Abbildung 2-3 beschrieben. Die Membran wird von den Elektroden umschlossen. Die Elektroden enthalten einen Katalysator, häufig Platin, der

die Reaktion in Gang setzt. Zusammen mit der Membran bilden sie die katalysatorbeschichtete Membran (engl. catalyst coated membrane, CCM). Beidseitig der CCM befinden sich Gasdiffusionslagen (engl. gas diffusion layer, GDL). Die Kombination der CCM mit den GDL wird Membran-Elektroden-Einheit (engl. membrane electrode assembly, MEA) genannt. Die MEA wird von Bipolarplatten (BPP) abgeschlossen. (Lehmann 2014; Töpler & Lehmann 2017). Abgesehen von der Membran, die gasdicht ist und keine Poren haben darf, haben die anderen Lagen verschiedene Porengrößenverteilungen. Dabei sind die Poren der Katalysatorschicht am kleinsten und liegen im Durchschnitt bei einem Durchmesser von 4-17 nm (Xie et al. 2004).

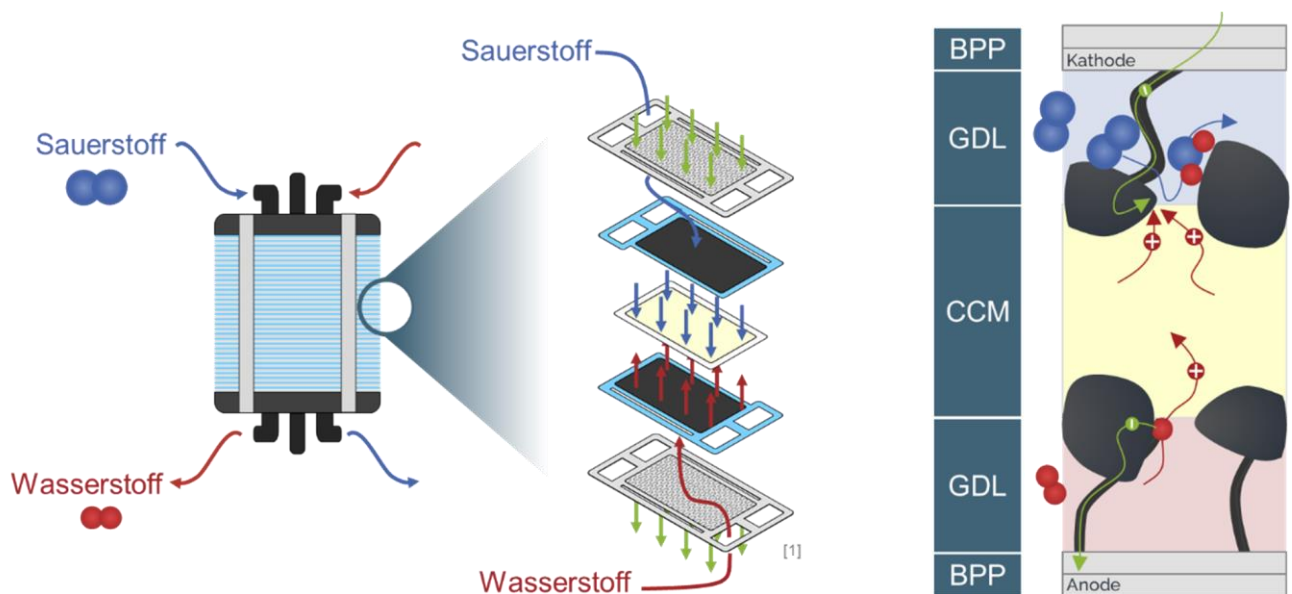


Abbildung 2-3: Schematischer Aufbau einer PEMFC (Schäfer & Eschner 2019).

2.1.3 Herstellverfahren der CCM

Die Wahl des Herstellverfahrens der CCM stellt eine wichtige Rahmenbedingung an die Ausgestaltung des Selbstheilungsmechanismus. Zur Herstellung der CCM wird die Membran auf beiden Seiten mit einer Katalysatorschicht versehen. Zur Aufbringung der Katalysatorschicht gibt es verschiedene Optionen.

Im Stand der Technik ist der Ausgangspunkt eine Tinte aus kohlenstoffgeträgerten Katalysatoren (Platin) und einer Polymer-Dispersion. Das Polymer ist protonenleitend und

meist eine per- oder polyfluorierte Alkylsubstanz (PFAS), aber auch nicht-fluorierte Kohlenwasserstoff-Ionomere¹³ wie sulfoniertes Poly(arylenethersulfon), sulfoniertes Poly(etheretherketon) und sulfoniertes Polyimid kommen vermehrt zum Einsatz (Maiti et al. 2022).

Die Tinte kann mittels CCM-basiertem indirekten oder direktem Ansatz aufgebracht werden. Der indirekte Ansatz zeichnet sich durch die Beschichtung der Tinte auf eine Träger- oder Decalfolie aus, die im Anschluss auf die Membran übertragen wird (Decal-Prozess). Um die maximale Leistungsdichte der CCM zu erzielen, ist es sinnvoll, den Übertrag bei einer Temperatur von 97 °C und einem Druck von 66 kg/cm² für 3,6 Minuten durchzuführen (Okur et al. 2013). Aus Sichtweise des Vorhabens dieser Dissertation, bei dem Enzyme verwendet werden sollen, ist dieses Verfahren ungeeignet, da Enzyme hohen Temperaturen schlecht standhalten können. Nachteilig sind außerdem der zusätzlich notwendige Prozessschritt und die Mehrkosten der Decalfolie.

Demgegenüber steht der CCM-basierte direkte Ansatz, bei dem die Tinte direkt auf die Membran aufgetragen wird. Bei der Direktbeschichtung variieren die Auftragsmethoden der Tinte von Ultraschallspritzen, Elektrospray-Auftrag, Elektrospinnen, Schlitzfärbung, Tintenstrahldruck, Rakel, Siebdruck, Pinseldruck bis hin zum Tiefdruck (Lim et al. 2021). Die Trocknungsdauer ist vom jeweiligen Verfahren abhängig, beschränkt sich jedoch auf wenige Minuten. Ebenso ist die Trocknungstemperatur vom Verfahren abhängig. Eine isotherme Trocknung bei Raumtemperatur ist möglich, was aus Sichtweise der Enzyme vorteilhaft ist. Einen Nachteil stellt das Quellen der Membran beim Kontakt mit Lösungsmitteln dar. Durch die Auswahl geeigneter Lösungsmittel kann das Problem reduziert werden. Eine zusätzliche Herausforderung bei der Wahl dieses Verfahrens wäre, dass die Enzyme dem Lösungsmittel standhalten müssen ohne zu denaturieren. Beispiele für gängige Lösungsmittel sind n-Propanol, Isopropanol, Dimethylformamid (DMF), Dimethylsulfoxid, Glycerin, Ethanol, Ethylenglykol, n-Butylacetat, Methanol und Aceton, wobei Mischungen von Wasser mit n-Propanol oder Isopropanol am häufigsten verwendet werden. (Guo et al. 2021)

¹³ Ionomere sind ionenleitende Polymere

Ein alternatives Verfahren ist die Trockenbeschichtung der Membran mit Katalysator- und Ionomerpulver. Vorteil ist der gänzliche Verzicht auf Lösungsmittel. Der nachfolgende Heißpressschritt schränkt die Anwendbarkeit für den enzymatischen Selbstheilungsmechanismus jedoch ein. (Talukdar et al. 2019)

Die Wahl des Herstellungsverfahrens beeinflusst in erheblichem Maße die Struktur und Funktion der CCM. Je nach Herstellverfahren variieren die Parameter und die Herstellschritte signifikant. Für die Anwendung des Selbstheilungsmechanismus stellt die Membrandirektbeschichtung unter Berücksichtigung geeigneter Wahl des Lösungsmittels und der Trocknungstemperatur die beste Option dar, und soll in dieser Arbeit vorausgesetzt werden. Die Abstimmung des Herstellungsverfahrens mit den Parametern des Selbstheilungsmechanismus muss jedoch außerhalb dieser Arbeit umfassend untersucht werden.

2.1.4 Charakterisierung der PEM

Die Polymerelektrolytmembran (PEM) ist der zentrale Bestandteil einer PEMFC. E.I. DuPont de Nemours and Company (heute Chemours) entwickelte um 1960 ein perfluoriertes Polymer, das unter dem Markennamen NafionTM vertrieben wird (Prakash et al. 2009). Ein perfluoriertes Polymer ist eines bei dem alle Wasserstoffatome durch Fluoratomer ersetzt sind (C-F anstatt C-H). NafionTM war das erste entwickelte synthetische Polymer mit ionischen Eigenschaften, und wird daher auch als Ionomer bezeichnet (Banerjee 2015). Seit den 1990er Jahren wurde NafionTM zur Membran der Wahl für Niedertemperaturbrennstoffzellen, wozu die PEMFC und die Direktmethanolbrennstoffzellen (DMFC) zählen. Sie ist bis heute der mit Abstand meistverbreitete PEM-Typ. (Mauritz & Moore 2004)

Sie wird durch Copolymerisation¹⁴ eines perfluorierten Vinylether-Comonomers mit Tetrafluorethylen hergestellt, was zu der in Abbildung 2-5 dargestellten chemischen Struktur führt (Mauritz & Moore 2004). NafionTM Membranen werden häufig durch ihre Dicke, ihre Ionenaustauschkapazität und ihr Äquivalenzgewicht (englisch: equivalent weight, kurz EW) charakterisiert (Peron et al. 2010).

¹⁴ Die Copolymerisation ist die Polymerisation von zwei oder mehreren unterschiedlichen Monomeren

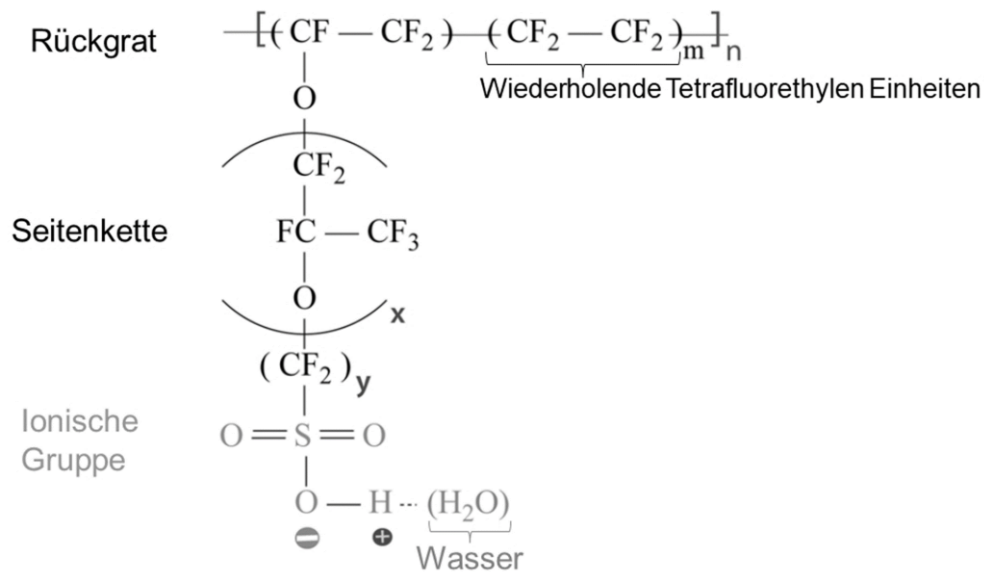


Abbildung 2-4: Molekülstruktur eines Nafion™ Ionomers. Typische Werte: $x = 1$; $y = 2$. Bearbeitet nach Kusoglu & Weber 2017. Typische Werte: $m = 5\text{--}13$; $n \approx 1000$; angelehnt an Kurzweil & Schmid (2016).

Nafion™ besteht aus zwei Domänen. Domänen sind Bereiche mit verschiedenen Eigenschaften und Funktionalitäten. Das perfluorierte Rückgrat (C-F Rückgrat) des Polymers gewährleistet eine hohe mechanische Festigkeit, sowie thermische und chemische Stabilität, das auch in anderen Materialien wie Teflon™ Anwendung findet. Nafion™ besitzt hingegen eine zweite Domäne, die Sulfonsäuregruppen. Die Sulfonsäuregruppe liegt in wässriger Umgebung in Form der SO_3^{2-} Ionen vor. Dies ermöglicht die Protonenleitung der Membran (Töpler & Lehmann 2017).

Die thermische und chemische Stabilität des perfluorierten Rückgrats ist auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Fluor-Kohlenstoff-Verbindung zurückzuführen. Fluor besitzt mit einem Elektronegativitätswert von 3,98 nach Pauling die höchste Elektronegativität aller Elemente des Periodensystems (Pitzer 1960). Dies führt dazu, dass die Bindung zwischen Fluor und Kohlenstoff stark polarisiert ist und zu den stärksten Einfachbindungen zählt. Mit einer zunehmenden Anzahl von Fluoratom an einem Kohlenstoffatom nimmt die Bindungsstärke weiter zu. Fluoratom haben einen größeren Radius als Wasserstoffatome, was in perfluorierten Kohlenstoffketten zu sterischen und elektronischen Abstoßungen führt. Diese Abstoßungen verursachen, dass perfluorierte Kohlenstoffketten eine helikale Konformation einnehmen (Liu et al. 2018), und dadurch eine effektive Abschirmung des Kohlenstoffs ermöglichen, wodurch

dieser optimal vor nukleophilen Angriffen geschützt ist. Dies erklärt die geringe Reaktivität und hohe chemische und thermische Stabilität dieser Verbindungen (Kredel 2021).

Nafion™ hat durch die zwei Domänen eine einzigartige phasengetrennte Nanostruktur. Das perfluorierte Rückgrat bildet eine hydrophobe (wasserabweisende) Domäne aus, während die Sulfonsäuregruppen hydrophil (wasseraufnehmend) sind (Kusoglu & Weber 2017; Mauritz & Moore 2004). Die Ansammlung von Sulfonsäuregruppen bildet Nanoporen, die mit zunehmender Wassermenge ein verbundenes Netzwerk aus Ionenkanälen bilden (Liu et al. 2016). Eine hohe Anzahl an Ionenkanälen, bedingt eine hohe Leitfähigkeit der Membran, was wünschenswert ist. Jedoch wirkt sich dies negativ auf die mechanische Stabilität der Membran aus. Die Membran kann durch die Ionenkanäle mehr Wasser aufnehmen, quillt stärker und verliert an mechanischer Stabilität. (Giffin et al. 2013)

Zusammenfassend vereint Nafion™ folgende Eigenschaften:

- Chemische Stabilität: Die umgebenden Fluoratome in perfluorierten Verbindungen sorgen durch ihre sterische und elektrische Abstoßung für eine effektive Abschirmung, sodass der Kohlenstoff optimal vor nukleophilen Angriffen geschützt ist, wodurch sich eine enorme Reaktionsträgheit begründet.
- Thermische Stabilität: Nafion™ ist für hohe Betriebstemperaturen geeignet und kann in einigen Anwendungen bei Temperaturen von bis zu 190 °C eingesetzt werden.
- Stark ionenleitend: Die Sulfonsäuregruppen fungieren aufgrund der stabilisierenden Wirkung der großen Polymermatrix als extrem starker Protonendonator.
- Selektiv und aufnahmefähig für Wasser (hydrophil): Die Sulfonsäuregruppen können sehr effizient Wasser absorbieren.

Nafion™ stellt einen guten Kompromiss zwischen Stabilität und Protonenleitfähigkeit dar. Dennoch wird das Ausfallen der PEM als einer der Hauptfaktoren betrachtet, der die Lebensdauer von PEMFCs beeinträchtigt und somit die kommerzielle Anwendung einschränkt (Xing et al. 2021).

2.1.5 Pinholes und Degradationsmechanismen der PEM

Die Lebensdauer der PEM hängt von ihrem initialen Zustand sowie von den Betriebsbedingungen der PEMFC ab. Die Betriebsbedingungen in Fahrzeuganwendungen erfordern wechselnde Leistungsanforderungen. Lastwechsel, häufiges Anfahren/Ab-schalten, Leerlauf und Kaltstart erschweren das Erreichen der Lebensdauerziele (Wallnöfer-Ogris et al. 2024; Yuan et al. 2011). Die Ausgangsleistung muss häufig geändert werden, um den Energiebedarf des Fahrzeugs zu decken. Der variierende Leistungsbedarf der PEMFC führt dazu, dass die PEM dynamischen Änderungen von Temperatur, Feuchtigkeit, dem Bedarf an Wasserstoff, Strom und Potenzial ausgesetzt ist, was die Degradation der PEM fördert (Xing et al. 2021). Die dynamischen Änderungen fördern den Verschleiß der PEM. Sie wird während des langfristigen Einsatzes in PEMFCs beschädigt (Büchi et al. 2009; Kusoglu & Weber 2017; Zhang et al. 2009). Ein Degradationsmechanismus ist die Entstehung von Pinholes (engl. für Nadellöcher). Abbildung 2-5 zeigt ein Pinhole in einer Nafion™ Membran mit einem Durchmesser von ca. 20 µm.

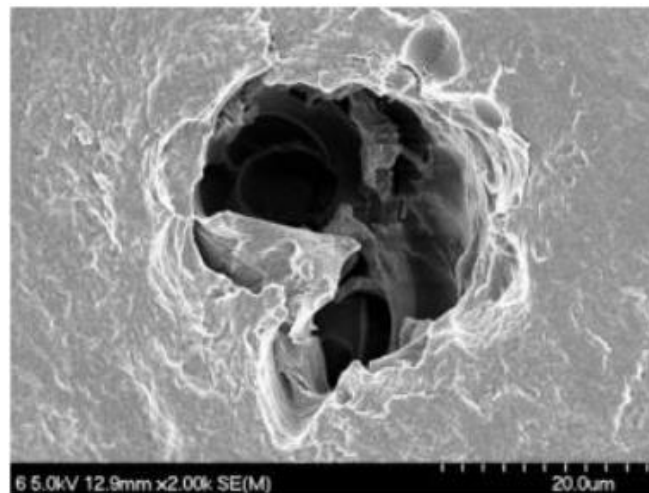


Abbildung 2-5: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Pinholes in einer Nafion™ Membran (Lee et al. 2011).

Pinholes beeinträchtigen die Leistung der PEMFC. Der Effekt kann einerseits mathematisch simuliert, andererseits experimentell ermittelt werden.

In einer Simulation konnte gezeigt werden, dass bereits ein einziges Pinhole, das 0,1 % der Membranfläche entspricht, die Leistung der PEMFC beeinflusst. Es wurde auch gezeigt, dass mehrere Pinholes synergetisch wie ein größeres Pinhole wirken können.

Zusätzlich wurde der Wasserstoffpermeationskoeffizient bestimmt, ab welchem der elektrische Wirkungsgrad der Zelle anfängt abzufallen. Wasserstoffpermeation in der PEMFC, oder auch Gascrossover genannt, meint die unerwünschte Permeation von Wasserstoff durch die Membran z.B. durch Pinholes. Der ermittelte Grenzwert liegt bei $1 \cdot 10^{-10} \text{ mol/bar} \cdot \text{cm} \cdot \text{s}$. Bei einem Wasserstoffpermeationskoeffizienten von $10^{-8} \text{ mol/bar} \cdot \text{cm} \cdot \text{s}$ halbiert sich bereits der elektrische Wirkungsgrad der Zelle. Bei noch höheren Werten kann es zu einer Stromumkehr kommen, weil sich an den Anoden- und Kathodenkatalysatorschichten gemischte Potenziale bilden. Es wurde gezeigt, dass der Grenzwert allgemeingültig ist, das heißt für eine Vielzahl von Betriebsbedingungen und unabhängig von der Geometrie und Struktur des Strömungsfeldes. Nach Überschreiten des Grenzwertes fällt der elektrische Wirkungsgrad jedoch schneller oder langsamer in Abhängigkeit von den Betriebsbedingungen. (Weber 2008)

In experimentellen Untersuchungen zeigten Huang et al., dass ein Pinhole mit dem Durchmesser von 700 μm zu keinem unmittelbaren Zellspannungsverlust führt, aber der Gascrossover leicht ansteigt. Ein Pinhole mit dem Durchmesser von 1,2 mm führt dagegen zu einem sofortigen Verlust der Zellspannung, aufgrund eines signifikanten Gascrossovers. (Huang et al. 2013)

Der Gascrossover verringert nicht nur den Gesamtwirkungsgrad des Systems, sondern stellt unter bestimmten Bedingungen eine Explosionsgefahr durch eine Knallgasreaktion zwischen Wasserstoff und Sauerstoff dar und ist damit auch ein entscheidender Faktor für den sicheren Betrieb der PEMFC (Liu et al. 2022). Der Einfluss der Lage des Pinholes auf die Leistung kann simulativ und experimentell bestimmt werden. So hat ein Pinhole am Einlass der Reaktionsgase, einen größeren Einfluss auf die Gesamtleistung der PEMFC als in der Mitte des Brennstoffzellenstacks (Jung et al. 2017).

Die Ursachen der Pinholebildung sind auf verschiedene Degradationsmechanismen sowie die zyklische Beanspruchung der PEM zurückzuführen. Es lassen sich chemische, mechanische und thermische Degradationsmechanismen unterscheiden. In den meisten Fällen tauchen sie gekoppelt auf, wobei ein Mechanismus den anderen bedingt oder fördert (Wallnöfer-Ogris et al. 2024; Xing et al. 2021). Folgende Abbildung 2-6 ist ein Versuch die Ursache-Wirkungs-Beziehungen, die zur Pinhole Bildung und zum Leistungsabfall führen, übersichtlich darzustellen. Die einzelnen Ursachen sind im Folgenden erläutert.

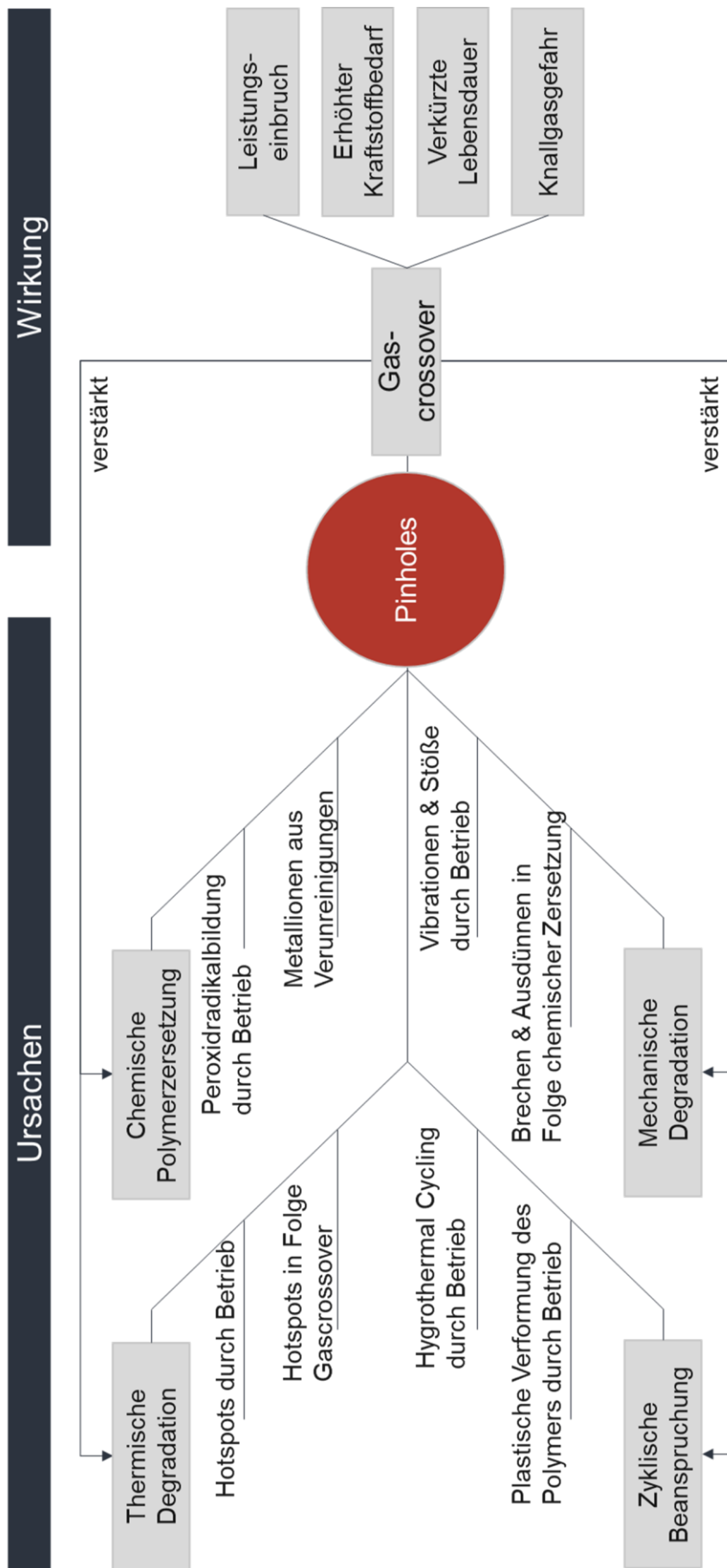


Abbildung 2-6: Darstellung der Ursache-Wirkungs-Beziehungen zum Problem der Pinholebildung in Polymerelektrolytmembranen (PEM).

Die chemische Polymerzerersetzung ist eine Ursache der Pinhole Bildung. Unter bestimmten Bedingungen (Potentialdifferenz $< 0,682$ V, saure Umgebung, Sauerstoff und Protonen vorliegend) bilden sich Wasserstoffperoxidradikale (Hydroxyl- und Peroxylradikale), die eine chemische Zersetzung der Polymerketten der Membran auslösen. Diese Bedingungen können auf beiden Seiten der Membran auftreten. Auf der Kathodenseite entsteht Wasserstoffperoxid als Zwischenprodukt der Sauerstoffreduktionsreaktion, auf der Anodenseite kann sich Sauerstoff befinden, der durch die Membran diffundiert ist. Die Radikale breiten sich weiter entlang der Seitenkette aus, reagieren mit den hydrophilen Sulfonsäuregruppen oder zersetzen ganze C-F-Einheiten der Membran. Die Reaktion beschleunigt sich selbst. Durch vorhandene Metallionen wie Fe^{2+} und Cu^{2+} wird die Bildung der Radikale weiter gefördert (Tang et al. 2021). Diese Metallionen können durch Verunreinigungen im System oder durch Metallkorrosion eingetragen werden und sich in der Membran ablagern. Die Membran verliert zunehmend ihre hydrophilen Kanäle und damit ihre Protonenleitfähigkeit. Sie wird brüchig, da sie weniger Wasser aufnehmen kann. Die kontinuierliche Abspaltung der Seitenketten führt zu einem Masseverlust der Membran, dünnt sie aus und es kommt zur Bildung von Pinholes. Der Masseverlust der Membran und die Freisetzung von Fluorid gelten als Maßstab für die Zersetzung der Membran. Die entstandenen Pinholes beschleunigen den Gascrossover. Der Gascrossover verursacht eine exotherme Reaktion und erzeugt lokale Hotspots (Temperaturspitzen), die die thermische Degradation der Membran fördern. (Cao et al. 2017; Chandesris et al. 2017; Ehlinger et al. 2019; Futter et al. 2019; Singh et al. 2018; Sun et al. 2020; Wang et al. 2021; Zatoń et al. 2017; Zheng et al. 2021)

Als mechanische Degradation werden das Brechen und Ausdünnung der Membran bezeichnet. Sie wird unter anderem durch die oben beschriebene chemische Polymerzerersetzung bedingt, das Molekulargewicht und der Feuchtigkeitsgehalt der Membran sinken und sie wird brüchig (Bhattacharya et al. 2020; Schmittinger & Vahidi 2008). Eine weitere Ursache sind Vibrationen und Stöße, die im Fahrzeugbetrieb auftreten und zur Rissbildung in der Membran und zur Ablösung der Katalysatorschichten führen können (Çalik et al. 2017). Ein weiterer Grund ist montagebedingt. Bei der Montage steht die Membran unter Klemmspannung. Angesichts der Geometrie des Strömungsfelds der Bipolarplatte wird ein ungleichmäßiger Druck auf die Membran aufgebracht, was zum

Kriechen der Membran (viskoelastische Verformung unter Last) führt. Dieser Fertigungsfehler wird anschließend durch die Betriebsbedingungen verstärkt. (Kulkarni et al. 2019; Mahmoudi et al. 2016)

Die thermische Degradation der PEM tritt in der Regel bei extremen Betriebsbedingungen und Temperaturschwankungen auf. Das Anfahren der PEMFC bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt und der Normalbetrieb bei über 100 °C bleiben temperaturbedingte Herausforderungen von PEMFCs (Kusoglu & Weber 2015). Sie kann jedoch auch unter normalen Betriebsbedingungen (< 100 °C) in Folge des Gascrossovers eingeleitet werden. Durch Pinholes kann Wasserstoff diffundieren, der auf der Kathodenseite oxidiert wird, sodass lokale Hotspots von 100 - 140 °C entstehen. Dies führt wiederum zu einer fortschreitenden Degradation der Membran. (Bodner et al. 2015)

Ein weiterer Grund ist die zyklische Beanspruchung des Membranpolymers. NafionTM ist ein viskoelastisches Polymer, dessen mechanischen Eigenschaften von Zeit, Temperatur, Druck und Feuchtigkeitsgehalt abhängig sind. Insbesondere das sogenannte *hygrothermal cycling* (zyklischer Wechsel von Temperatur und Feuchte) stresst die Membran. Dies tritt vor allem beim Startvorgang der PEMFC auf. Unter Belastung beginnt das Polymer zu gleiten und reorganisiert seine Molekularstruktur. E-Modul und Bruchspannung verringern sich, die plastische Verformung nimmt zu. In der Membran äußert sich das als Quellen bzw. Schrumpfen. Langfristig führt diese plastische Verformung zur Membranermüdung, Pinholes entstehen. (Patil et al. 2010; Ramani et al. 2020; Talke et al. 2018; Zhao & Li 2019)

Es gibt etliche experimentelle Untersuchungen und Modelle, die Ursachen, Effekte und Gegenmaßnahmen der Degradationsmechanismen in der PEMFC analysieren. Die große Anzahl der über 500 Publikationen bestätigt die herausragende Bedeutung des Problems. Folgende aktuelle Reviewartikel fassen diese Erkenntnisse zusammen, siehe Tabelle 2-1:

Tabelle 2-1: Übersicht aktueller Publikationen zu Degradationsmechanismen, Einflussfaktoren und Lebensdauer der PEM.

Inhalt	Autor & Jahr
Degradationsmechanismen, Einflussfaktoren, Folgen, Strategien zur Schadensbegrenzung	(Wallnöfer-Ogris et al. 2024)
Lebensdauer unter Fahrzyklen	(Zhao & Li 2023)
Degradation und Ausfallarten	(Araya et al. 2022)
Degradationsmechanismen, Strategien zur Schadensbegrenzung	(Xing et al. 2021)
Lebensdauer bei Langzeitbetrieb, Einflussfaktoren, Prüfprotokolle	(Nguyen et al. 2021)
Faktoren der Lebensdauer, Herausforderungen, Zukunftsperspektiven	(Habib et al. 2021)
Gas-Crossover	(Tang et al. 2021)
Lebensdauer für Anwendungen in Fahrzeugen, Degradationsarten, Experimentelle Techniken	(Zhao & Li 2019)

Die meisten Publikationen fokussieren singuläre Aspekte oder Mechanismen. Die Wechselwirkungen zwischen mechanischer, thermischer und chemischer Degradation sind bisher nur unzureichend erforscht (Dafalla et al. 2022). Auch Felddaten sind bisher unzureichend vorhanden. Es gestaltet sich also als äußerst herausfordernd die Vielzahl an Ursachen des Problems zu beheben.

2.2 Selbstheilungsmechanismen in Polymeren

Im folgenden Kapitel werden Definition, Funktionsweise und eine Kategorisierung verschiedener Selbstheilungsmechanismen erläutert.

2.2.1 Einleitung und Definition

In der Natur haben viele Organismen die Fähigkeit, Schäden spontan zu reparieren, was eine wichtige Eigenschaft für die Verlängerung ihrer Lebensspanne ist. In ähnlicher Weise können bestimmte funktionelle Materialien verursachte Schäden in ihrer Matrix reparieren und die Lebensdauer verlängern (Wan et al. 2023).

Selbstheilung ist in der Literatur mit unterschiedlichen Ausrichtungen definiert. Nach Brochu et al. (2011) sind selbstheilende Materialien so konzipiert, dass sie Schäden erkennen, aufhalten und sogar rückgängig machen können, idealerweise ohne externe physikalische oder chemische Stimuli zu benötigen. Frei et al. (2013) bezeichnen die Selbstheilung als Bottom-up-Ansatz, bei dem die Komponenten des Systems den Schaden von innen heraus heilen. Nach Brooks & Roy (2021) bedeutet Selbstheilung, dass ein beschädigter Teil eines Systems wieder nahezu in den ursprünglichen Zustand zurückgeführt werden kann. Dabei werden keine neuen Komponenten verwendet, sondern das Original wird geheilt. Brooks & Roy (2021) ordnen Selbstheilung dem Begriff des *Self-Engineerings* unter. Angrenzende und überlappende Gebiete sind die Selbstreparatur (*Self-Repair*) und die Selbst-Versiegelung (*Self-Sealing*). Im Unterschied zur Selbstheilung findet Selbstreparatur auf Komponentenebene anstatt auf Materialebene statt und kann auch neu hinzugefügte Materialien beinhalten. Die Selbstversiegelung basiert auf den Prinzipien der Selbstheilung und Selbstreparatur und zielt darauf ab, Lecks zu schließen, um eine Vermischung von Substanzen zu verhindern.

Das Konzept der selbstheilenden Polymermaterialien wurde in den 1980er Jahren entwickelt (Jud et al. 1981). In den letzten zehn Jahren gab es bedeutende Fortschritte. Diese Materialien sind vor allem vielversprechend, wenn es um die Ausstattung von Geräten mit Selbstheilungsfähigkeiten geht. Dies ist besonders relevant, wenn Materialien anfällig für mechanische, thermische oder chemische Degradation, oder Schäden durch Ultraviolette Strahlung sind, die Mikrorisse in ihrer Struktur verursachen, was zur Deformation und zu langfristigen Schäden führt. Die Integration selbstheilender Eigenschaften in Materialien ermöglicht eine erhebliche Verbesserung der Lebensdauer, Funktionalität und Sicherheit von Geräten. Dies kann die Lebenszykluskosten reduzieren und teure aktive Überwachungen, externe Wartung sowie kostenintensive Reparaturen oder den Austausch von Komponenten vermeiden. (Romero-Sabat et al. 2021; Varghese et al. 2006; Zhu et al. 2020)

2.2.2 Funktionsweise und Kategorisierung

Die Selbstheilung eines Polymers kann je nach Design spontan oder durch Einwirkung spezifischer Stimuli (Strahlung, Wärme, pH-Wert, Licht, Katalysator) erfolgen. Selbstheilungsmechanismen können nach verschiedenen molekularen Bindungsmechanismen, wie physikalisch, chemisch und in eine Kombination beider Ansätze kategorisiert werden (Wang & Urban 2020). Abbildung 2-7 zeigt diese Einteilung.

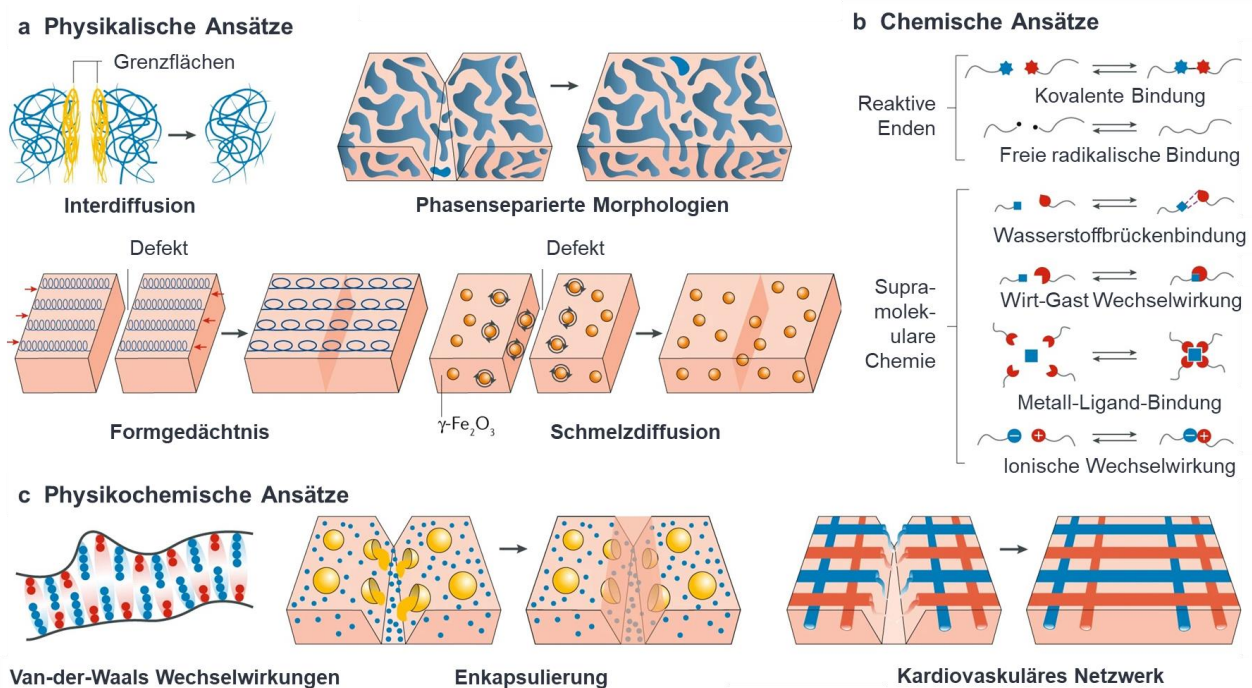


Abbildung 2-7: Kategorisierung von Selbstheilungsmechanismen in Polymeren unterschieden nach Bindungstyp, angelehnt an (Wang & Urban 2020).

Physikalische Ansätze umfassen die Interdiffusion von Polymerketten, phasengerechte Morphologien, Formgedächtniseffekte und aktive Nanopartikel. Chemische Ansätze beinhalten reaktive Kettenenden und supramolekulare Chemie. Die Kombination physikalischer und chemischer Mechanismen ermöglicht ebenfalls Selbstheilung. Dies kann durch verstärkte van-der-Waals-Wechselwirkungen, den Einsatz von Kapseln mit reaktiven Flüssigkeiten oder durch Kapillarnetze mit reaktiven Chemikalien zur Reparatur der Polymermatrix erreicht werden.

Eine alternative Kategorisierung bieten Wan et al. (2023). Sie unterscheiden in lediglich zwei Kategorien, die extrinsische und die intrinsische Selbstheilung. Zur Gestaltung eines Selbstheilungsmechanismus für die PEM sind die verschiedenen Vor- und Nachteile der extrinsischen und intrinsischen Ansätze von Bedeutung. Diese sind in Tabelle 2-2 dargestellt. Basierend auf diesen Informationen können Anforderungen an den Selbstheilungsmechanismus der PEM abgeleitet werden. In der Tabelle sind bedeutende Vor- und Nachteile für die Anwendung in der PEMFC farblich hervorgehoben.

Tabelle 2-2: Kategorisierung von Selbstheilungsmechanismen in Polymeren unterschieden nach extrinsisch und intrinsisch. Vor- und Nachteile, in rot markiert besonders gravierende Nachteile für die Anwendung in PEMFC.

	Extrinsisch		Intrinsisch	
	Kapseln mit Füllstoff	Kapillarnetzwerk mit Füllstoff	Nicht-kovalente Bindung	Dynamische kovalente Bindung
+	<ul style="list-style-type: none"> • schnelle Reaktionszeit • hohe Heilungseffizienz 		<ul style="list-style-type: none"> • mehrfache Selbstheilung • autonom 	<ul style="list-style-type: none"> • mehrfache Selbstheilung
-	<ul style="list-style-type: none"> • Modifizierung der Membran • Materialkompatibilität • Einmalanwendung 		<ul style="list-style-type: none"> • Materialneuentwicklung • Nur bestimmte Polymere • Risse im Nanometerbereich 	<ul style="list-style-type: none"> • Materialneuentwicklung • Abhängig von externem Stimulus

Extrinsische Selbstheilung meint die Abhängigkeit von zusätzlichen Materialien, die in das Polymer eingearbeitet sind. Dazu zählen Kapseln (White et al. 2001) oder Kapillarnetze, die Füllstoffe enthalten (Patrick et al. 2014). Bei Rissbildung reißen die Kapseln oder Kapillaren auf und setzen chemisch reaktive Substanzen frei. Diese polymerisieren anschließend und versiegeln den Riss. Vorteile der extrinsischen Selbstheilung sind die schnelle Reaktionszeit bei der Selbstheilung und eine hohe Heilungseffizienz. Ein Nachteil ist die Berücksichtigung von Materialkompatibilitäten. Ein weiterer Nachteil ist die Einmalanwendung. Ist eine Kapsel oder Kapillare aufgebraucht und ausgehärtet, ist keine zweite Selbstheilung an dieser Stelle möglich.

Intrinsische Selbstheilungsmechanismen hingegen ermöglichen eine mehrfache Selbstheilung. Sie basieren auf nicht-kovalenten oder dynamisch kovalenten Bindungen, die bei der Materialherstellung in das Polymer eingebracht werden. Sie verleihen dem Material die Fähigkeit immer wieder zu brechen und zusammengesetzt zu werden (Herbst et al. 2013). Ein Nachteil besteht besonders im komplexen Herstellungsprozess, denn das Polymer muss von Grund auf neu entwickelt werden (Wan et al. 2023). Im Folgenden wird näher auf die Unterkategorien der intrinsischen Mechanismen eingegangen.

Nicht-kovalente Bindungen sind schwache molekulare Wechselwirkungen (Supramolekulare Chemie), wie Wasserstoffbrückenbindungen, Ionische Wechselwirkungen und Metall-Ligand-Bindungen. Sie sind von Natur aus dynamisch umkehrbar und erfordern kein Eingreifen von außen. Sie organisieren sich selbst. Damit bieten sie eine autonome

Fehlerkorrektur (Wan et al. 2023). Sie haben eine geringere Bindungsenergie als kovalente Bindungssysteme und neigen daher eher zur Dissoziation¹⁵ als zum wirklichen Materialbruch. Treibende Kraft für die Reparatur ist die Kettendiffusion an der Polymer-Polymer-Grenzfläche (Yang & Urban 2013). Aus der mikroskopischen Perspektive der Selbstheilung müssen die Bindungen im Polymernetzwerk unter bestimmten Bedingungen dynamisch sein. Aus der makroskopischen Perspektive muss die Bruchfläche des Polymers nahe genug, also im Nanometerbereich, sein, um den Selbstheilungsprozess zu realisieren (Bindungsabstand Wasserstoffbrückenbindung in Wasser 0,18 nm). Gewöhnliche Polymere, die nicht-kovalente Bindungen enthalten, können den Selbstheilungsprozess nicht durchführen, da ihre Kettenbeweglichkeit begrenzt ist.

Dynamische kovalente Bindungen beruhen auf der reversiblen Bildung und dem Bruch einer starken kovalenten Bindung innerhalb eines Moleküls. Der Prozess des Bruchs und der Wiederherstellung basiert auf der Thermodynamik, beschrieben durch die freie Gibbs-Energie (ΔG) (Yang & Urban 2013; Zhang et al. 2018). Wenn die Gesamtenergie des Prozesses ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$) kleiner als 0 ist, also die Enthalpie abnimmt und die Entropie zunimmt, dann ist die Reaktion spontan. Das thermodynamische Gleichgewicht dieser dynamischen kovalenten Netzwerke ist deutlich langsamer als der Prozess der Selbstorganisation von nicht-kovalenten Bindungen, und erfordert daher oftmals die Unterstützung durch externe Stimuli (Cash et al. 2015; Huang et al. 2014; Oh et al. 2016; Wojtecki et al. 2011; Ying et al. 2014; Zhang et al. 2018). Reversible kovalente Bindungen können Disulfidbrücken (initiiert durch eine Redoxreaktion nach Temperaturanregung, Strahlung oder durch den Einsatz eines Katalysators), Diels-Alder-Bindungen in einer Cycloaddition (initiiert durch eine Temperatur von 60 °C, reversibel bei 110 °C) oder Iminbindungen (initiiert durch Temperatur- oder pH-Stimulus) sein (Lei et al. 2020; Song et al. 2019). Mit ihnen können selbstheilende Polymere mit bestimmten mechanischen Eigenschaften hergestellt werden.

Die beiden Kategorisierungen listen Selbstheilungsmechanismen, die sich in ihrer Wirkung ähneln. Allerdings ist keiner der genannten Mechanismen in der Lage, multiple Selbstheilung bei minimaler Modifikation des Nafion™ Polymers zu vereinen. Die ge-

¹⁵ Dissoziation meint den angeregten oder selbsttätig ablaufenden Vorgang der Teilung einer chemischen Verbindung

nannten Mechanismen bedürfen entweder einer grundlegenden Veränderung des Polymers, beispielsweise durch Einbringen von Kapseln oder eines Kapillarnetzwerks. Andererseits müsste eine Neuentwicklung des NafionTM Polymers durch Zugabe weiterer Polymere stattfinden, um dynamisch kovalente oder nicht-kovalente Bindungen zu integrieren. Kapseln und Netzwerkstrukturen können den Füllstoff lediglich so lange bereitstellen, bis dieser aufgebraucht ist. Dies führt zu einer Endlichkeit des Konzepts. Eine Materialneuentwicklung ist aufgrund der besonderen Eigenschaften von NafionTM nicht wünschenswert (vgl. 2.1.4). Daher wird in dieser Dissertation ein alternativer Ansatz konzipiert, welcher eine mehrfache Selbstheilung bei einer minimalen Modifikation des Polymers ermöglicht.

2.3 Biotechnologische Grundlagen

Zur Ausgestaltung eines neuartigen Selbstheilungsansatzes sind Grundlagen zu spezifischen Feldern der Biotechnologie notwendig. Der in dieser Arbeit konzipierte Selbstheilungsansatz basiert auf einer enzymatischen Polymerisation. Kurzgefasst sollen Enzyme in die PEM integriert werden, die dann per enzymatischer Polymerisation einen Füllstoff herstellen, der die Pinholes versiegelt. Im Folgenden sind daher Grundlagen und Techniken beschrieben, die in dieser Arbeit zum Einsatz kommen. Diese umfassen Grundlagen zu Enzymen, Immobilisierungstechniken von Enzymen an die Membran, die enzymatische Polymerisation zur Bildung des Füllstoffs und die Theorie der verwendeten analytischen Methoden.

2.3.1 Enzyme

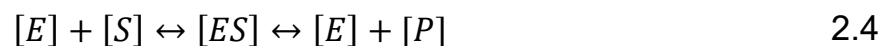
Enzyme gehören zur Stoffgruppe der Proteine. Proteine bestehen aus einheitlichen Bausteinen, den Aminosäuren. Als Proteine werden Moleküle mit mehr als 100 Aminosäuren bezeichnet. Kürzere Moleküle mit bis zu 50-100 Aminosäuren werden Peptide genannt. Enzyme fungieren als Biokatalysatoren, das heißt sie katalysieren¹⁶ biochemische Reaktionen u.a. im menschlichen Körper. Ein Katalysator ist für den Ablauf von Reaktionen von essentieller Bedeutung. Der Katalysator senkt die Aktivierungsenergie

¹⁶ Katalyse bezeichnet die Erleichterung der Bildung eines gewünschten Stoffes, durch den Zusatz eines Katalysators

und initiiert oder beschleunigt den Reaktionsablauf um den Faktor $10^5 - 10^{12}$. Der Katalysator nimmt selbst an der Reaktion teil, wird aber während des Prozesses nicht verbraucht. (Bisswanger 2015; Illanes 2008)

$$\text{Biokatalysatoren} = \text{Enzyme} \subseteq \text{Proteine}$$

Enzyme können eine Reaktion in beide Richtungen katalysieren, d. h. durch ihren Einsatz können Stoffe synthetisiert¹⁷ werden, in der Umkehrreaktion können aber auch Stoffe wieder in die Ausgangsstoffe (= Substrate) zerlegt werden. Die Reaktionskinetik nach Michaelis-Menten lautet daher wie folgt, mit [E] Enzym, [S] Substrat, [ES] Enzym-Substrat-Komplex und [P] Produkt:



Enzyme werden industriell in der Lebensmittel-, Pharma- und Chemiebranche eingesetzt. Im Gegensatz zu chemischen Katalysatoren arbeiten die biologischen Katalysatoren unter milden Bedingungen, bezogen auf pH-Wert, Temperatur und Druck (Jaeger et al. 2018a). Enzyme sind in der Lage mit außerordentlich hoher Substratspezifität bestimmte chemische Reaktionen zu katalysieren (Kobayashi & Makino 2009). Sie können auf eine bestimmte Reaktion hin maßgeschneidert werden (Hans et al. 2009; Wu et al. 2008). Das sogenannte katalytische Zentrum im Enzym wandelt bei der Reaktion die Substrate in Produkte um. Die umliegenden Aminosäurereste bestimmen durch ihre räumlichen und elektrostatischen Eigenschaften, wie kompatibel das Enzym mit dem jeweiligen Substrat ist. Die räumliche Anordnung dieser Aminosäurereste wird vor allem durch die umgebenen Bedingungen, wie pH-Wert, Temperatur, und Salzgehalt beeinflusst. (Bisswanger 2015)

Enzyme lassen sich in sechs verschiedene Klassen (engl. enzyme commission number, kurz EC-Nummer) einteilen, abhängig von ihrer katalysierten Reaktion. Im Fokus dieser Arbeit stehen Enzyme, dessen Produkt ein polymerer Füllstoff ist. Die verschiedenen Enzymklassen und deren typische Polymere, die katalysiert werden können, sind in Tabelle 2-3 aufgelistet.

¹⁷ Synthese bezeichnet die Erzeugung eines Stoffes, meist durch eine katalytische Reaktion

Tabelle 2-3: Klassifizierung von Enzymen für die *in vitro* Produktion von Polymeren, angelehnt an Kobayashi et al. (2001).

EC-Nummer	Enzymklasse	Polymere
1	Oxidoreduktasen	Polyphenole, Polyaniline, Vinylpolymere
2	Transferasen	Polysaccharide, Cyclische Oligosaccharide
3	Hydrolasen (→ Lipasen)	Polysaccharide, Polyamide, Polyamino-säuren, Polyester, Polycarbonate
4	Lyasen	-
5	Isomerasen	-
6	Ligasen	Polyester

In dieser Arbeit werden Lipasen zur Herstellung eines polymeren Füllstoffs verwendet. Lipasen sind Enzyme der Klasse der Hydrolasen. Lipasen zeichnen sich durch erhöhte Stabilität in organischen Lösungsmitteln, eine hohe Toleranz bei pH-Schwankungen und durch ein breites Substratspektrum aus, was ihnen vielseitige Anwendungsmöglichkeiten in zukünftigen Technologien eröffnet und sie für die Anwendung in dieser Arbeit interessant macht.

$$\text{Lipasen} \subseteq \text{EC3: Hydrolasen} \subseteq \text{Enzyme}$$

Industriell werden Lipasen primär eingesetzt, um die Reaktion der Fettspaltung zu katalysieren (Lipolyse) (Konwar & Sagar 2018). Sie können aber auch die Umkehrreaktion der Veresterung katalysieren. Die Veresterung bezeichnet eine Reaktion, bei der ein Alkohol mit einer Säure zu einem Ester reagiert. Die Veresterung wird industriell für die Herstellung von Aromastoffen, Süßungsmitteln, Tensiden und Polymeren durchgeführt (Gumel et al. 2011; Polaina & MacCabe 2007). Im Folgenden werden die beiden in dieser Arbeit eingesetzten Lipasen aus den Hefen *Candida antarctica* (CALB) und *Candida rugosa* (CRL) vorgestellt.

Ausgewählte Lipasen

Die Lipase aus der Hefe *Candida rugosa* (CRL) ist ein gut untersuchtes und weit verbreitetes Enzym. Sie besteht aus 543 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 60 kDa (kilo Dalton) und den Abmaßen 4,5 nm × 3 nm × 3 nm (Benjamin & Pandey 1998; Domínguez de María et al. 2006; Xiao et al. 2021). CRL wird in verschiedenen Industriezweigen eingesetzt, einschließlich der Lebensmittelindustrie zur Herstellung

von Fetten, Ölen und Aromastoffen sowie in der pharmazeutischen Industrie zur Herstellung von Wirkstoffen wie Ibuprofen, Naproxen und Ketoprofen (Benjamin & Pandey 1998). Für die CRL sind verschiedene Polymerisationsreaktionen beschrieben. Ein Beispiel ist die Ringöffnungspolymerisation von Lactonen zur Verwendung als Biopolymer. Bei solchen Polymerisationsversuchen handelt es sich vor allem um Versuche im Labormaßstab (Labet & Thielemans 2009).

Die CRL hat ihr Temperaturoptimum zwischen 35 - 40 °C und einem pH-Wert von 7 (Yong et al. 2008). Bei 45 °C beginnt die Inaktivierung, und bei 50 °C weist die CRL eine Halbwertszeit von weniger als einer Stunde auf. Bei 60 °C ist fast die gesamte katalytische Aktivität verloren (Chang et al. 2006). Enzyme wie die CRL, die aus Mikroorganismen stammen, die Umgebungstemperaturen zwischen 20 - 45 °C bevorzugen, sind im Allgemeinen bei hohen Temperaturen instabil. Optionen zur Erhöhung der Temperaturstabilität bei über 50 °C sind die Immobilisierung des Enzyms oder das Protein Engineering. Unter Immobilisierung versteht man die Anbindung des Enzyms an ein Trägermaterial. Yong et al. (2008) zeigten eine Erhöhung des Temperaturoptimums der CRL um 10 °C durch die Immobilisierung des Enzyms auf Trägermaterialien. Foresti & Ferreira (2004) zeigen, dass eine Immobilisierung an Polypropylen-Membranen den Substratumsatz gegenüber der freien CRL um ca. 17 % erhöht. Protein Engineering stellt eine zweite Option zur Erhöhung der Temperaturstabilität dar. Damit können thermisch stabile Mutanten erzeugt werden. Li et al. (2018b) haben mutationsbedingte Stabilitätsänderungen in der CRL durch drei rationale Designmethoden vorhergesagt. Die thermostabilste Mutante zeigte eine 5,5-fach längere Halbwertszeit bei 50 °C und eine Erhöhung des Temperaturoptimum um 10 °C.

In dieser Arbeit wird eine zweite Lipase betrachtet. Die Lipase B aus der Hefe *Candida antarctica* (CALB) ist ein äußerst stabiles Enzym, das jährlich im Tonnenmaßstab industriell hergestellt wird (Jaeger et al. 2018a). Sie ist aufgrund ihrer hohen Selektivität und katalytischen Aktivität in der organischen und Polymersynthese das am meisten untersuchte Enzym (Cabrera et al. 2009; Kundys et al. 2018). CALB besteht aus 317 Aminosäuren, hat ein Molekulargewicht von 33 kDa (Strzelczyk et al. 2016). CALB besitzt ein Temperaturoptimum bei 40 °C und ein pH-Optimum von 7. Die katalytische Aktivität der CALB fällt ab 40 °C kontinuierlich ab und zeigt bei 90 °C keine Aktivität mehr, vergleiche Abbildung 2-8. (Poojari & Clarson 2013)

CALB wird hauptsächlich in immobilisierter Form verwendet und ist kommerziell als Novozym® 435 (N435) (Ortiz et al. 2019) erhältlich. Dabei ist die Lipase auf einem Polymethylmethacrylat-Harz als Trägermatrix immobilisiert (Saunders & Brask 2010). In der Regel geht mit der Immobilisierung ein Aktivitätsverlust einher. In Abgrenzung zu seiner freien Form weist N435 eine signifikant höhere Aktivität und Stabilität bei extremen Temperaturen auf (Cabrera et al. 2009). Perez-Venegas et al. (2020) weisen die thermische Stabilität der N435 bis zu 85 °C nach. Mei et al. (2002) zeigen eine signifikante thermische Stabilität bis zu 100 °C, sowie eine erhöhte Stabilität gegenüber organischen Lösungsmitteln. Poojari & Clarson (2013) bestätigen die signifikant höhere Stabilität und Aktivität der N435 bei 100 °C. Die relative Aktivität gegenüber dem Temperaturoptimum liegt bei 80 % im Lösungsmittel Diphenylether und bei 60 % im Lösungsmittel Toluol. Oberhalb einer Temperatur von 100 °C ist eine signifikante Abnahme der Aktivität zu beobachten, die bis zum vollständigen Verlust bei 160 °C anhält, vergleiche Abbildung 2-8.

Poojari & Clarson (2013) untersuchten außerdem die Langzeitstabilität bei 80 °C der freien CALB und der N435 in Toluol über 30 Tage. Die freie CALB verlor ihre Aktivität vollständig nach 48 h. Die Aktivität von N435 nahm mit zunehmender Inkubationszeit in den ersten 5 Tagen sogar zu und blieb für die weiteren 25 Tage oberhalb der Ausgangsaktivität.

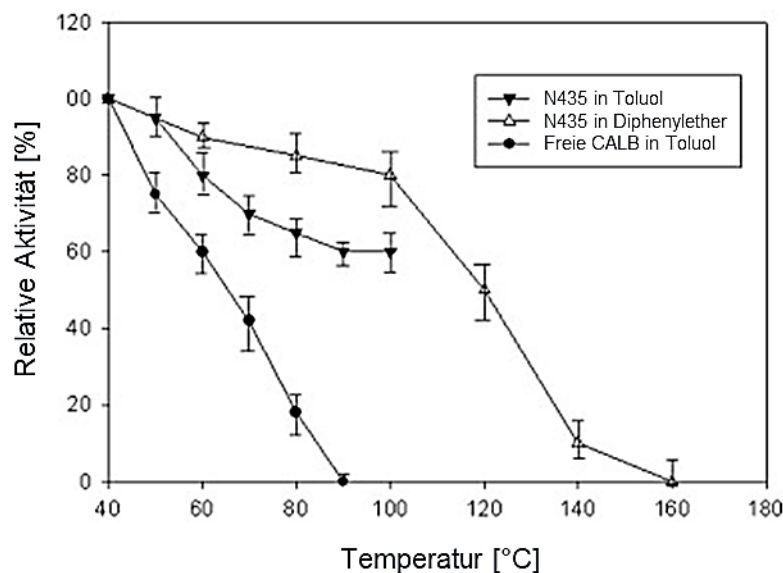


Abbildung 2-8: Relative Aktivität der CALB und der N435 zwischen 40 und 160 °C, modifiziert nach Poojari & Clarson (2013).

Ein weiterer wesentlicher Faktor ist die Aktivität der käuflich erhältlichen CALB und N435. Die Aktivität der N435 (Produktnummer L4777, Sigma-Aldrich) liegt bei 5.000 U/g. Im Vergleich dazu liegt die höchste Aktivität einer kommerziell erhältlichen freien Form der CALB (Produktnummer 62288, Sigma-Aldrich) bei 9,7 U/mg. Dies entspricht einem Faktor von 5 Mio.

CALB ist ein effizienter Biokatalysator für die Polymersynthese und wurde schon von Kundys et al. (2018) für die Synthese von cyclischen Estern eingesetzt. Die Ringöffnungspolymerisation und Polykondensation mit N435 der Monomere ϵ -Caprolacton, Trimethylencarbonat und Oxysäuren zu Polymeren sind literaturbekannt. (Deng & Gross 1999; Miletić et al. 2010; Uyama & Kobayashi 2006)

Bestimmung der Enzymaktivität

Um zu demonstrieren, dass ein Enzym vorhanden und aktiv ist, kann dessen Aktivität nachgewiesen werden. Dies ist in dieser Arbeit erforderlich, wenn das Enzym verschiedenen Betriebsbedingungen der PEMFC ausgesetzt wurde. Es kann sein, dass das Enzym unter diesen Stressfaktoren denaturiert, d.h. seine Form und damit seine Funktion verliert. Dazu wird die Aktivität der Enzyme vor und nach der Behandlung verglichen. Eine Denaturierung der Enzyme manifestiert sich in einem Abfall ihrer Aktivität. Außerdem kann der Erfolg der Immobilisierung der Enzyme an der Membran demonstriert werden. Ziel hierbei ist, dass die Enzyme nach der Immobilisierung noch immer aktiv sind.

Zur Aktivitätsbestimmung der Lipasen eignet sich ein *para*-Nitrophenol-Acetat-Assay. Ein Assay ist eine standardisierte Methode der Biotechnologie zum Nachweis von Substanzen, in diesem Fall zum Nachweis des Enzyms. Dieser Assay ist eine kolorimetrische, spektroskopische Methode und ist für freie als auch immobilisierte Lipasen etabliert (Barik et al. 2022; Stradomska et al. 2021). Abbildung 2-9 zeigt schematisch die Reaktion des Aktivitätsnachweises.

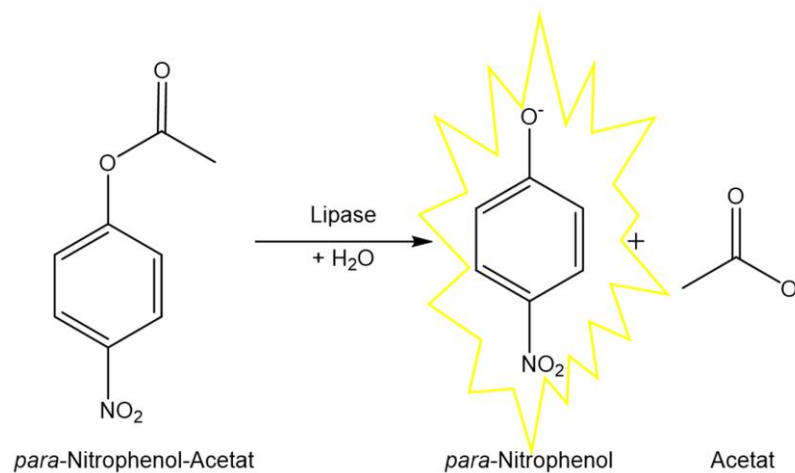


Abbildung 2-9: Funktionsweise des *para*-Nitrophenol-Acetat-Assays zum Nachweis der Enzymaktivität (A_Bilger 2022).

Para-Nitrophenol-Acetat (*p*-NPA) ist ein Substrat, dass von einer nativen Lipase gespalten werden kann. Bei erfolgreicher Umsetzung liegen als Spaltprodukte *para*-Nitrophenol (*p*-NP) und Acetat vor. *p*-NP erscheint dabei gelb (bei alkalischen Bedingungen). Die *p*-NP Moleküle absorbieren Licht bei einer Wellenlänge von 410 nm und können spektroskopisch detektiert und quantifiziert werden (Bowers et al. 1980). Die Aktivität von Enzymen wird in Unit (U) angegeben, ein U entspricht der Umsetzung von 1 μmol Substrat pro Minute. Da Enzyme substratspezifisch sind, kann die Aktivität für jedes Substrat unterschiedlich sein (Hess & Brand 1964).

2.3.2 Immobilisierung von Enzymen

In dieser Arbeit ist die Immobilisierung von Enzymen an die Polymerelektrolytmembran (PEM) der Brennstoffzelle (NafionTM) vorgesehen. Dies stellt den ersten Schritt zur Realisierung des Selbstheilungsmechanismus dar. Die Technik der Enzymimmobilisierung wurde bereits 1916 von Nelson und Griffin beschrieben. Sie hat das Ziel, Enzyme an geeignete Trägermaterialien zu binden. Dadurch wird ihre technische Anwendbarkeit verbessert. (Melo et al. 2021; Nelson & Griffin 1916)

Die Immobilisierung von Enzymen bietet mehrere Vorteile. Davon sind in dieser Arbeit die Wiederverwendbarkeit der Enzyme interessant, sowie eine erhöhte Stabilität der Enzyme in extremen Umgebungen, wie hohe Temperaturen, sauren oder basischen pH-Werten und gegenüber organischen Lösungsmitteln. (Dwevedi 2016; Polaina & MacCabe 2007)

Eine Immobilisierung kann auf unterschiedliche Weise erfolgen. Einerseits kann das Enzym durch kovalente Bindungen an ein Trägermaterial gebunden werden. Andererseits ist eine adsorptive Wechselwirkung möglich, beispielsweise durch hydrophobe Interaktionen, Wasserstoffbrücken, oder durch polare oder elektrostatische Wechselwirkungen zwischen Enzym und Materialoberfläche. Eine Alternative zur Anbindung an ein Trägermaterial stellt die Einbettung von Enzymen in Polymermatrizen dar. Eine weitere Möglichkeit ist die trägerfreie Vernetzung von Enzymen. (Jaeger et al. 2018b)

Die Bindungsaffinität bezeichnet die Neigung von Molekülen, A (z.B. Enzym) und B (z.B. NafionTM), eine bindende Wechselwirkung einzugehen. Sie wird durch die Dissoziationskonstante (K_d -Wert) quantifiziert, welche die Stärke der Wechselwirkung zwischen den Molekülen A und B beschreibt. Die Bindungsaffinität ist individuell von der Art und Anzahl der Wechselwirkungen zwischen Enzym- und Materialoberfläche abhängig. Der K_d -Wert gibt an, ob die Stoffe A und B dissoziiert oder undissoziiert vorliegen und wird durch die Konzentrationen der Moleküle A, B und AB bestimmt. Je kleiner der K_d -Wert, desto größer ist die Bindungsaffinität. Die Berechnung erfolgt gemäß Gleichung 2.5, wobei $c(A)$, $c(B)$ und $c(AB)$ die Konzentrationen der Moleküle A, B und AB in Einheiten von mol/L sind. (Holleman & Wiberg 2008)

$$K_d = \frac{c(A) \cdot c(B)}{c(AB)} \quad 2.5$$

Strategien zur Bindung von Enzymen an Polymermembranen basieren typischerweise auf der Verwendung von *Linkern* (engl. für Verbindungsstücke), die kovalent an beide Komponenten binden. Kovalente Immobilisierungsstrategien bieten eine stabile Bindung und sind daher bevorzugt. Um diese kovalenten Bindungen zu ermöglichen, müssen sowohl das Enzym als auch die Oberfläche der Polymermembran funktionelle Gruppen wie Carboxyl-, Hydroxyl- oder Aminogruppen aufweisen. Während Enzyme normalerweise über diese Gruppen verfügen, müssen die erforderlichen Verankerungspunkte auf der Polymeroberfläche beispielsweise durch Oberflächenoxidation vor der Linker-Immobilisierung eingeführt werden. (Jaeger et al. 2018b) Dieses Funktionalisierungsverfahren ist jedoch nicht auf perfluorierte Polymere wie NafionTM anwendbar, da die C-F-Bindung sehr stabil ist (Peters 1963).

Eine mögliche Option der physikalischen Immobilisierung von Enzymen an Nafion™ bieten fluorophile Wechselwirkungen. Diese Option wird in dieser Arbeit angewendet und im Folgenden vorgestellt.

Immobilisierung durch fluorophile Wechselwirkungen

Unter fluorophiler Wechselwirkung oder Fluor-Fluor-Wechselwirkung wird die anziehende Wechselwirkung zwischen fluorhaltigen Strukturen verstanden (Jones et al. 2016). Die Natur von fluorophilen Wechselwirkungen wird kontrovers diskutiert. Fluor hat eine geringe Polarisierbarkeit, sodass die anziehenden interatomaren Dispersionskräfte zwischen zwei Fluor Atomen eher gering sind (Pauling ca. 2010). Es werden zwei Typen von Halogen-Halogen-Wechselwirkungen, wozu Fluor zählt, klassifiziert. Dabei sollen die Wechselwirkungen in Typ I durch eine enge Packung entstehen und keine stabilisierenden Wechselwirkungen bilden, während in Typ II die Fluor-Fluor-Wechselwirkung durch die Polarisierung der Fluoratome entsteht. Diese Annahme bestätigt Tothadi et al. (2013). In weiteren Studien zur Untersuchung der Anziehung von Perfluorkohlenstoff-Ketten (C-F-Ketten) an selbstorganisierten fluorierten Monoschichten wird die fluorophile Wechselwirkung auf die Van-der-Waals Kräfte zurückgeführt (Fang et al. 2018). Jbeily et al. (2017) untersuchten die Anziehung von F-Rhodaminen mit fluorierten Monoschichten. F-Rhodamine sind rote Farbstoffmoleküle, die eine C-F-Kette tragen. Eine längere C-F-Kette (Rh-C₂H₄-C₁₀F₂₁) zeigte im Vergleich zu einer kürzeren C-F-Kette (Rh-CH₂-C₃F₇) eine wesentlich höhere Affinität zu den fluorierten Monoschichten auf. Daraus lässt sich schlussfolgern, je länger die C-F-Kette, bzw. je mehr perfluorierte Kohlenstoffe vorhanden sind, desto stärker ist fluorophile Wechselwirkung.

Die Anwendungen von fluorophilen Wechselwirkungen reichen von der Verwendung in der Chromatographie¹⁸ (Li et al. 2018a), in der Wirkstoffverabreichung (Wang et al. 2016), in Hydrogelen¹⁹ (Kumarasamy et al. 2020; Quan et al. 2020), bis hin zur Abwasseraufbereitung, wo fluorierte Substanzen durch fluorophile Wechselwirkungen adsorbiert und aus dem Wasser entfernt werden (Shetty et al. 2020; Xiao et al. 2019; Román Santiago et al. 2023; Koda et al. 2014; Moro et al. 2022; Niu et al. 2014).

¹⁸ Chromatographie bezeichnet ein Trennverfahren der Biotechnologie

¹⁹ Hydrogele sind Polymere, die Wasser binden

Die Nutzung von fluorophilen Wechselwirkungen zur Immobilisierung von Enzymen an fluorhaltige Trägermaterialien wurde erstmals 1989 untersucht. Da Fluormoleküle selten in Enzymen vorkommen, wird ein *Linker* und / oder *Tag* (engl. für Markierung) an das Enzym angebracht, der eine oder mehrere C-F-Ketten trägt. Die C-F-Ketten wechselwirken mit dem fluorhaltigen Trägermaterial. Durch die Anbringung der C-F-Kette am Enzym werden auch die hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Enzym und Trägermaterial deutlich stärker. Es ist daher unklar, ob es sich ausschließlich um fluorophile Wechselwirkung oder auch um hydrophobe Wechselwirkungen handelt. (Kobos et al. 1989)

Hoshi & Yoshida (2014) haben eine Immobilisierungsmethode patentiert, worin ein Enzym mit einer C-F-Kette (perfluoroalkyliert mit min. 20 C-Atomen) versehen wurde und mit einem festen Trägermaterial, das ebenfalls C-F-Ketten trägt (perfluoroalkyliert mit min. 5 C-Atomen), durch Fluorophilie wechselwirkt.

Li et al. (2017) nutzen fluorophile Wechselwirkungen, um ebenfalls Proteine an eine fluorierte Oberfläche für die Herstellung von Protein-Mikroarrays²⁰ zu immobilisieren. Dabei gingen sie wie folgt vor: Zuerst brachten sie an ein Protein einen Linker an. Dieser Linker enthält einen Fluor-Tag (C_8F_{17}). Da fluorierte Moleküle schlecht in Wasser löslich sind, wurden zur Erhöhung der Löslichkeit ein Triethylenglykol, sowie polare und geladene Aminosäuren (z.B. Cystein) in den Linker eingebaut. Anschließend reinigten sie das Fluor-markierte Protein mittels Fluor-funktionalisierten magnetischen Nanopartikeln auf und immobilisierten es punktuell mit einem 3D-Drucker auf einem fluorhaltigen Trägermaterial. Sie zeigten, dass die Affinität der Fluor-markierten Proteine zur fluorhaltigen Oberfläche stark und irreversibel ist, sodass sie mehreren Waschzyklen standhielt. Außerdem zeigten sie, dass die Immobilisierung des Fluor-markierten Proteins hochspezifisch ist, da Proteine ohne Fluor-Tag nicht hafteten.

Lin & Li (2018) patentierten eine Methode zum Aufbau eines fluorhaltigen Linkers und eine Methode zur Immobilisierung von Proteinen mittels des Linkers an fluorierte Oberflächen. Der Linker ist nach dem Schema „Y-L-R“ aufgebaut, wobei Y einen Fluor-Tag

²⁰ Ein Protein-Mikroarray ist ein diagnostisches Werkzeug zum Nachweis von Proteininteraktionen

(C_3F_7 bis C_8F_{17}), L einen Linker und R eine funktionelle Gruppe zur Bindung eines Proteins darstellt. Der Linker kann Alkylreste (C_1 bis C_{15}) und verschiedene Aminosäuren beinhalten.

Abbildung 2-10 zeigt den schematischen Aufbau eines fluorhaltigen Linkers, der über fluorophile Wechselwirkungen an der Membran haftet. An den Linker kann nun das Enzym angebunden werden. Die Methode wird im Folgenden präsentiert.

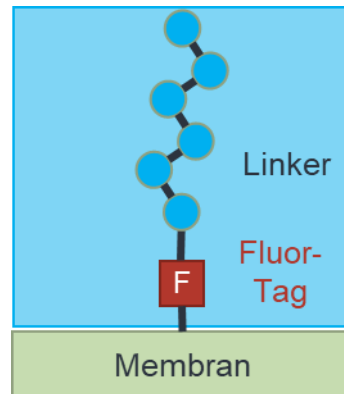


Abbildung 2-10: Schematischer Aufbau eines fluorhaltigen Linkers, zur Immobilisierung von Enzymen an fluoridierte Oberflächen.

Carbodiimid-Methode

In dieser Arbeit wird neben der Immobilisierung durch fluorophile Wechselwirkungen, eine zweite Methode zur Immobilisierung genutzt, die sogenannte Carbodiimid-Methode. Sie wird verwendet, um das Enzym mit dem Linker oder direkt mit dem Fluor-Tag zu verbinden. Außerdem wird die Methode genutzt, um das Enzym an eine funktionelle Gruppe auf einer Polypropylenmembran zu immobilisieren.

Carbodiimide sind Kupplungsreagenzien (Nguyen & Kim 2017). Sie sind sogenannte *zero-length-crosslinker*. Das heißt sie initiieren eine Bindung zweier anderer Moleküle, ohne dabei ein weiteres Atom in die Bindung einzubringen (daher *zero-length*) (Hermanson 2013). Im Falle von Proteinen initiieren sie eine Peptidbindung. Eine Peptidbindung ($-CO-NH-$) ist eine amidartige Bindung zwischen der Carboxylgruppe ($-COOH$) einer Aminosäure und der Aminogruppe ($-NH_2$) einer zweiten Aminosäure. Abbildung 2-11 A) zeigt schematisch die Reaktion zur Entstehung einer Peptidbindung: Das Carbodiimid Diisopropylcarbodiimid (DIC) reagiert mit einer freien Carboxylgruppe einer Aminosäure zu einem Intermediat. Das Intermediat reagiert im nächsten Schritt mit ei-

ner freien Aminogruppe einer zweiten Aminosäure. Eine Peptidbindung zwischen beiden Aminosäuren wird ausgebildet und Diisopropylurea bleibt als Nebenprodukt zurück. Abbildung 2-11 B) zeigt schematisch die Anwendung der Carbodiimidmethode, um ein Enzym an einen Linker zu koppeln und damit an eine Membran zu immobilisieren.

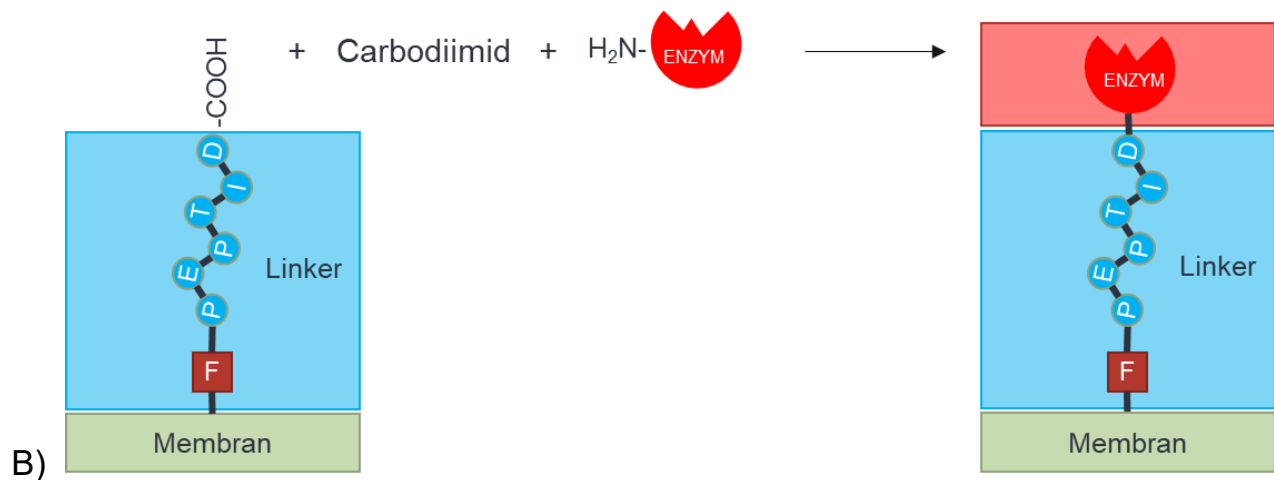
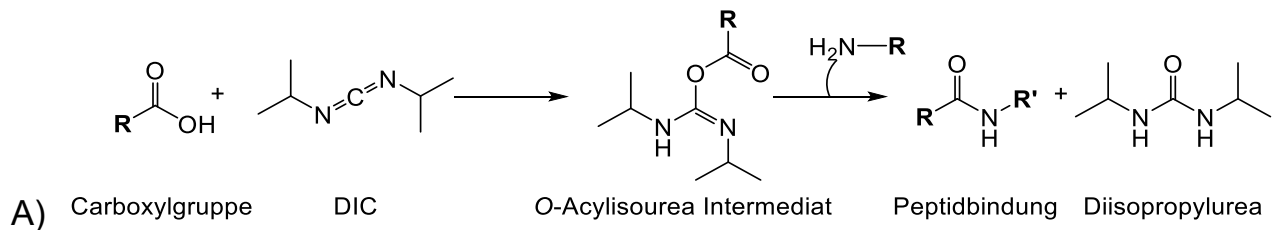


Abbildung 2-11: Funktionsweise des Carbodiimids als Kupplungsreagenz modifiziert nach Hermanson (2013) (A). Schematische Darstellung der Kupplung eines Enzyms an einen Linker mittels Carbodiimid (B).

Nachdem die Methoden zur Immobilisierung von Enzymen an der Nafion™ Membran bekannt sind, werden im Folgenden die Grundlagen für den nächsten Schritt der Selbstheilung, die Füllstoffherstellung, präsentiert.

2.3.3 Füllstoffherstellung per enzymatischer Polymerisation

Zur Selbstheilung von Pinholes in der Membran wird ein Füllstoff benötigt, der ebenfalls aus einem fluorierten Polymer besteht. Dieser Füllstoff soll in-situ, also direkt in der PEMFC, durch enzymatische Polymerisation hergestellt werden.

Der Begriff „Polymer“ bezeichnet Makromoleküle, die durch kovalente Verknüpfung von Monomeren zu Ketten aus Wiederholungseinheiten gebildet werden. Der Polymerisationsgrad DP gibt die Anzahl der Wiederholungseinheiten an. Moleküle mit $DP < 100$ werden als Oligomere bezeichnet, während bei $DP > 100$ von Polymeren gesprochen wird. Mit zunehmendem DP ändern sich die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Polymers immer weniger, wenn eine weitere Wiederholungseinheit hinzugefügt wird (Koltzenburg et al. 2014)

Die enzymatische Polymerisation ist ein Prozess, bei dem Enzyme als Katalysatoren die Verknüpfung von Monomeren zu Polymeren ermöglichen (Kobayashi et al. 2001), vergleiche Abbildung 2-12.



Abbildung 2-12: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips einer enzymatischen Polymerisation.

Diese Methode bietet gegenüber der chemischen Polymersynthese mehrere Vorteile: Sie erfolgt unter milden Bedingungen bezüglich Temperatur, Druck und pH-Wert, vermeidet den Einsatz toxischer Reagenzien wie Schwermetallkatalysatoren, und die Enzyme können durch verschiedene Immobilisierungsmethoden wiederverwendet werden (Kobayashi et al. 2001). Zudem ermöglichen Enzyme regio- und stereoselektive Reaktionen (Loos & Stadler 1997), was die präzise Anpassung von Eigenschaften wie Hydrophilie oder Kristallinität erlaubt (Seyednejad et al. 2011). Ein Nachteil ist, dass die enzymatische Polymerisation tendenziell Polymere mit niedrigeren bis moderaten Molekulargewichten erzeugt (Albertsson & Varma 2003; Todea et al. 2022). Industriell hergestellte Polymere wie Polyethylen haben Molekulargewichte von 1.000-250.000 g/mol und bis zu 3 Mio. g/mol für Ultra-High-Density-Polyethylen, während enzymatisch erzeugte Polymere in einem Bereich von wenigen 1.000-45.000 g/mol liegen (Peacock 2000).

Die enzymatische Polymerisation wird durch die Wahl und Konzentration des Enzyms und des Monomers, die Reaktionstemperatur und -dauer, den Wassergehalt sowie das Lösungsmittel beeinflusst (Hevilla et al. 2021).

Ausgewählte Monomere

Wie in Tabelle 2-3 bereits beschrieben, katalysieren Lipasen die Polymerisation von cyclischen Monomeren wie beispielweise Lactone, Lactide, Carbonate, sowie von Hydroxysäuren oder deren Ester mit Diolen zur Erzeugung von Polyestern und Polycarbonaten (Hans et al. 2009; Knani et al. 1993; Liu et al. 2020; Wallace & Morrow 1989; Wu et al. 2008; Zhao 2018). Abbildung 2-13 zeigt beispielhafte Monomere.

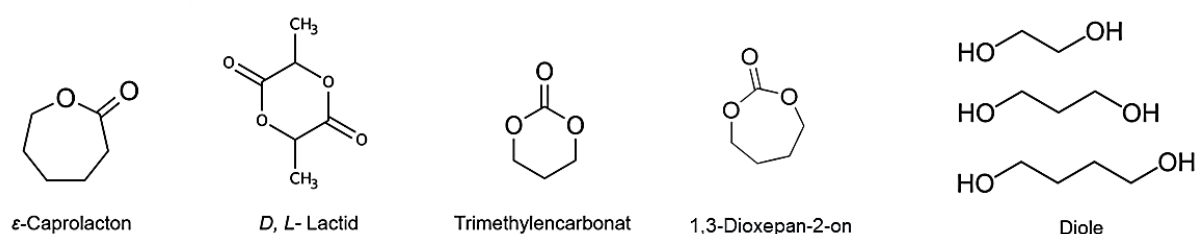


Abbildung 2-13: Beispielhafte Monomere, die für die enzymatische Polymerisation mit einer Lipase eingesetzt werden können (A_Adami 2023).

Mit allen in der Abbildung dargestellten Monomeren wurden bereits erfolgreich enzymatische Polymerisationen durchgeführt: Diese sind im Folgenden beschrieben und in Tabelle 2-4 zusammengefasst.

ε-Caprolacton wurde vielfach mit N435 zu Polycaprolacton umgesetzt und erreichte Molmassen bis zu 44.800 g/mol nach 24 h Reaktionszeit (Kumar & Gross 2000). Ein Polylactid wurde erfolgreich mit den Enzymen N435 und CRL synthetisiert (Matsumura et al. 1997; Zhao 2018). Glycolide und Lactide wurden u.a. mittels N435 zu einem Polylactid-co-glycolid umgesetzt (Dechy-Cabaret et al. 2004; Nicolás et al. 2023). Auch die enzymatische Polymerisation von cyclischen Carbonaten, wie z.B. Trimethylencarbonat, mit N435 erbrachte nach 48 h ein Polymer mit der Molmasse von 22.400 g/mol (Bisht et al. 1997; Wu et al. 2008; Yu et al. 2021). 1,3-Dioxepan-2-on wurde mit N435 zu einem Polymer mit einer Molmasse von 15.500 g/mol umgesetzt (Wu et al. 2008). Diole, wie Ethylenglycol oder 1,4-Butandiol wurden mit Bernsteinsäure und N435 zu

Polyethersulfon bzw. Polybutylensuccinat umgesetzt (Debuissy et al. 2016; Morales-Huerta et al. 2017). Des Weiteren wurden Diole mit Dimethyl-2,5-furandicarboxylate und N435 zu Polyethylenfuranoat polymerisiert (Jiang et al. 2015). Weitere Beispiele für enzymatische Polymerisationen von unfluorierten Monomeren wurden von Engel et al. (2019) beschrieben.

Um die Haftung des Füllstoffs an der Membran zu ermöglichen, ist ein fluoriertes Polymer als Füllstoff notwendig. Entsprechend müssen fluorierte Analoga der gezeigten Monomere verwendet werden. Die Eigenschaften fluorierter Monomere unterscheiden sich stark zu ihren unfluorierten Analoga (Berkowitz & Bose 2001). Die Polymerisation von fluorierten Monomeren ist herausfordernd, denn Fluormonomere sind aufgrund der starken elektronenziehenden Wirkung der Fluorsubstituenten reaktionsträge. Die Nicht-Mischbarkeit von fluorierten Substanzen in wässrigen und organischen Lösungsmitteln ist eine weitere Herausforderung. Um eine Mischbarkeit zu erzielen muss eine kritische Temperatur T_c erreicht werden (Gladysz 2004). Untersuchungen linearer perfluorierter Alkane in organischen Lösungsmitteln ergaben, dass auch die Länge der C-F-Kette, sowie der C-H-Kette des Lösungsmittels einen Einfluss auf T_c haben. Außerdem sind fluorierte Polymere nur sehr schwer in organischen Lösemitteln löslich, was die Charakterisierung der Polymere erschwert.

Dennoch sind einige erfolgreiche enzymatische Polymerisationen für fluorierte Monomere literaturbekannt. Bereits durchgeführt wurde die Polymerisation von Tetrafluorobutandiol und Divinyladipat. Dabei wurden Molmassen von ca. 3.000 g/mol mit N435 bei einer Reaktionszeit von 24 h erreicht (Mesiano et al. 2000). Höhere Molmassen konnten erzielt werden, wenn das fluorierte Diol einen zusätzlichen Methylenspacer zwischen den Fluoratomen und den Hydroxylgruppen enthielt. Des Weiteren wurde die Polymerisation fluorierter Lactone mit N435 gezeigt und ergab nach fünf Tagen Polymere mit einer Molmasse von 2.780-4.860 g/mol. Die Polymerisation fluorierter Hydroxycarboxylsäuren resultierte in einer Molmasse von bis zu 3.377 g/mol (Runge et al. 2000). Die Synthese von fluorierten aliphatischen Silikonpolyesteramiden mit N435 ergab einen Polyester aus Hexafluorpentandiol und Diethylether mit einer Molmasse von 8.000 g/mol nach 30 h. Dieser Polyester wurde dann mit α,ω -aminopropyl-terminiertes Poly(dimethylsiloxan) verknüpft (Palsule & Poojari 2010). Tabelle 2-4 listet die beschriebenen Monomere und ihre enzymatisch erzeugten Polymere.

Tabelle 2-4: Übersicht relevanter Arbeiten zur enzymatischen Polymerisation von nicht-fluorierten und fluorierten Monomeren mittels Lipasen.

	Verwendetes Monomer	Zu erzielendes Polymer	Autor & Jahr
Nicht-fluorierte Moleküle	ϵ -Caprolacton	Polycaprolacton	Kumar & Gross 2000
	Lactide	Poly lactid	Matsumura et al. 1997; Zhao 2018
	Glycolide & Lactide	Poly lactid-co-glycolid	Dechy-Cabaret et al. 2004; Nicolás et al. 2023
	Cyclische Carbonate	Polycarbonat	Bisht et al. 1997; Wu et al. 2008; Yu et al. 2021
	Diole + Di-Ester oder Carbonate	Polyester	Debuissy et al. 2016; Jiang et al. 2015; Morales-Huerta et al. 2017; Zhao et al. 2019
Fluorierte Moleküle	Tetrafluorobutandiol + Divinyladipat	Polyester (fluoriert)	Mesiano et al. 2000
	Fluorierte Lactone und fluorierte Hydroxycarboxylsäuren	Polyester (fluoriert)	Runge et al. 2000
	Aminopropyl-terminiertes-Polydimethylsiloxan + Diethyladipinat + 4 verschiedene fluorierte Alkandiole	Fluorsilikon	Palsule & Poojari 2010

In dieser Arbeit sollten zunächst enzymatische Polymerisationen eines Tetrafluorobutandiols in Anlehnung an Mesiano et al. (2000), sowie die Polymerisation eines fluorierten ϵ -Caprolactons durchgeführt werden, die in Vorversuchen jedoch nicht erfolgreich waren. Deutlich erfolgversprechender erwies sich die Synthese eines fluorierten Polycarbonats. Hierzu wurde zunächst das literaturunbekannte 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on erstmals synthetisiert und anschließend auf die enzymatische Polymerisierbarkeit untersucht. Für die enzymatische Polymerisation wurde zunächst, ebenfalls wie in den genannten Veröffentlichungen, N435 als besonders aktive Form der CALB verwendet. Im Folgenden wird der Reaktionsmechanismus der enzymatischen Polymerisation eines fluorierten cyclischen Carbonats erläutert.

Reaktionsmechanismus der enzymatischen Ringöffnungspolymerisation

Lipasen werden vorwiegend bei den Polymerisationsmechanismen des Kettenwachstums (Ringöffnungspolymerisation, ROP) und des Stufenwachstums (Polykondensation) eingesetzt. Für cyclische Monomere findet die ROP Anwendung. Bei der ROP

werden Monomere in einem Kettenwachstumsmechanismus schrittweise an eine bestehende Polymerkette addiert. Hierbei aktiviert die Lipase das cyclische Monomer, indem sie einen nukleophilen Angriff auf die Carbonylgruppe des Monomers initiiert. Dies führt zur Öffnung des Rings und zur Bildung eines aktiven Intermediats. Die treibende Kraft der Reaktion ist die Freisetzung der Ringspannung. Das aktive Intermediat reagiert dann mit einem weiteren ringförmigen Monomer, wodurch der Ring des zweiten Monomers geöffnet und an die wachsende Polymerkette angefügt wird. Dieser Schritt wiederholt sich, wodurch die Polymerkette verlängert wird.

Die ROP hat gegenüber der Polykondensation den Vorzug, Polymere mit längeren Ketten zu synthetisieren und keine Nebenprodukte zu erzeugen. Beispielsweise führt die Polykondensation einer Hydroxysäure oder eines Diols und einer Disäure zu Polymeren mit niedrigen Molekulargewichten (<30 kDa) (Engel et al. 2019). Die ROP ist daher die bevorzugte Polymerisationstechnik, um Polymere mit einstellbaren und einzigartigen Eigenschaften, wie gut definierten Strukturen mit monomodaler Polydispersität, herzustellen.

In dieser Arbeit wird das fluoriertes cyclische Carbonatmonomer 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on mittels Lipase in einer ROP zu einem Polycarbonat polymerisiert. Das Grundprinzip dieser ROP ist in Abbildung 2-14 dargestellt:

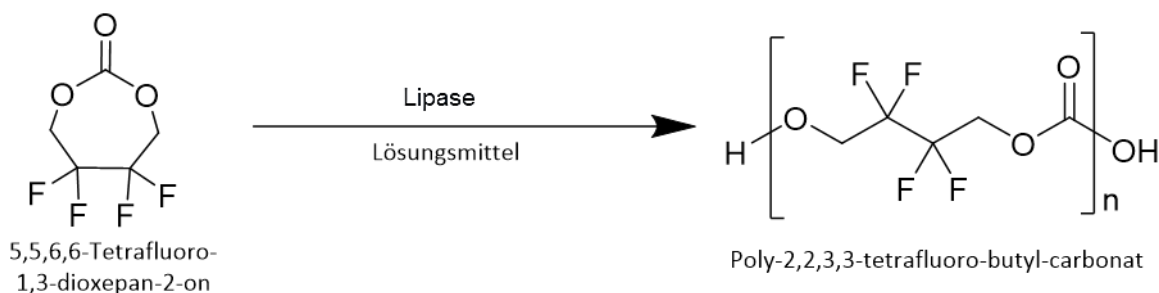


Abbildung 2-14: Schema der enzymatischen Ringöffnungspolymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on zu Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat.

Reaktionssysteme

Für den Ablauf der Ringöffnungspolymerisation (ROP) müssen geeignete Reaktionsmedien ausgewählt werden. Diese Medien umfassen lösungsmittelfreie, wässrige und nichtwässrige Reaktionssysteme sowie Zweiphasensysteme (James et al. 2007). Bei der Auswahl sind insbesondere die Löslichkeit und Stabilität des Monomers sowie die Aktivität der Lipase im jeweiligen Medium von entscheidender Bedeutung.

Bei einem lösungsmittelfreien System liegt das Monomer in flüssiger Form vor, was die höchstmögliche Monomerkonzentration ermöglicht und die Entfernung des Lösungsmittels überflüssig macht. Allerdings kann das Enzym unter diesen Bedingungen an Stabilität und Aktivität verlieren (van Schie et al. 2021). Wässrige Lösungsmittel sind meist das bevorzugte Medium für biokatalytische Reaktionen in der Natur. Lipasen werden jedoch durch Grenzflächen aktiviert und zeigen geringere katalytische Aktivitäten in wässrigen Lösungen als an einer Alkan-Wasser-Grenzfläche (James et al. 2007). In wässrigen Medien katalysieren Lipasen die Hydrolyse²¹ und können Polymere wieder in Monomere spalten (Bornscheuer et al. 2002; Sharma & Kanwar 2014). Organische Lösungsmittel besitzen eine erhöhte Löslichkeit für hydrophobe Monomere, wie fluorierte Moleküle (Kumar et al. 2016). Das thermodynamische Gleichgewicht begünstigt die Polymersynthese gegenüber der Hydrolyse. Zudem kann eine bessere thermische Stabilität der Lipasen erreicht werden, da Wasser Lipasen bei hohen Temperaturen inaktiviert (Kumar & Gross 2000). Standardmäßig werden enzymatische ROPs mit Lipasen aufgrund dieser Vorteile in lösungsmittelfreien Systemen oder in organischen Lösungsmitteln durchgeführt (Bisht et al. 1997; Wu et al. 2008).

Ein weiterer Einflussfaktor bei der Wahl des Lösungsmittels ist die Membran. NafionTM absorbiert verschiedene Lösungsmittel unterschiedlich stark aufgrund seiner hydrophilen und hydrophoben Bereiche. Eine starke Absorption kann zur Quellung der Membran bis hin zu ihrer Auflösung führen, was vermieden werden soll (Katzenberg et al. 2021).

Für die Polymerisation von fluorierten Monomeren mit Lipasen ist die Verwendung eines organischen Lösungsmittels vorteilhaft, da das Monomer darin besser löslich ist als in einem wässrigen Medium. Zudem verschiebt die Verwendung eines organischen Lösungsmittels das Reaktionsgleichgewicht zugunsten der Polymerbildung. Der Einfluss der Membranquellung durch verschiedene organische Lösungsmittel muss in experimentellen Untersuchungen bestimmt werden. Erst danach kann ein geeignetes Lösungsmittel ausgewählt werden.

²¹ Hydrolyse bezeichnet die Spaltung einer chemischen Verbindung durch Reaktion mit Wasser

2.3.4 Theorie der analytischen Methoden

In diesem Kapitel erfolgt die Erläuterung der verwendeten analytischen Methoden. Die Fluoreszenzmikroskopie wird eingesetzt, um die Bindung von fluoreszierenden Peptiden an Nafion™ nachzuweisen. Im Rahmen der Charakterisierung von Monomeren und Polymeren finden die Kernspinresonanzspektroskopie (NMR), die Größenausschlusschromatographie (SEC), die Differenzkalorimetrie (DSC), die Thermogravimetrische Analyse (TGA) sowie die Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometrie (ToF-SIMS) Anwendung. Darüber hinaus wird die Gaschromatographie eingesetzt, um die Dichtigkeit der Membran zu testen.

Fluoreszenzmikroskopie

Die Fluoreszenzmikroskopie ist ein lichtoptisches Kontrastverfahren zur Darstellung fluoreszierender Strukturen. Proben, die bereits autofluoreszieren, benötigen keine zusätzlichen fluoreszierenden Substanzen. Sekundäre Fluoreszenzsubstanzen erfordern zur Fluoreszenzmarkierung eine Vorbehandlung mit Fluorochromen. Durch spezifische Färbungen kann eine genaue Lokalisierung der markierten Strukturen erreicht werden.

In dieser Arbeit wird die Fluoreszenzmikroskopie zum Screening von bindenden Peptiden an Nafion eingesetzt (Kap. 5.2.3). Nafion ist autofluoreszierend. Außerdem wird die Methode zum Nachweis der Bindung eines Rhodaminpeptids an Nafion verwendet (Kap. 5.2.2.2). Rhodamine sind fluoreszierende Farbstoffe.

NMR-Spektroskopie

Die Kernspinresonanzspektroskopie (engl. nuclear magnetic resonance, kurz NMR) ist eine Analysetechnik zur Bestimmung der chemischen Zusammensetzung einer Probe. Protonen und Neutronen sind Nukleonen mit einer Kernspin-Quantenzahl. Sie besitzen magnetische Eigenschaften, die durch Ladung oder Masse gekennzeichnet werden und entweder den Wert $-\frac{1}{2}$ oder $\frac{1}{2}$ annehmen können. Zusammen bilden sie Atomkerne, deren magnetische Eigenschaften durch den Kernspin beschrieben werden. In der NMR-Spektroskopie ist der Wasserstoff-1-Kern ^1H der am häufigsten untersuchte Kern. (Tampieri et al. 2021)

Um Moleküle zu analysieren und einzelne Substituenten oder funktionelle Gruppen zu identifizieren, wird die chemische Verschiebung δ bestimmt. Diese Verschiebung be-

schreibt den relativen Abstand der Resonanzlinie eines Moleküls von einem festgelegten Standardwert. Die chemische Verschiebung wird in ppm angegeben und nach der Gleichung 2.6 berechnet mit ν Frequenz (Lambert & Marsmann 2012).

$$\delta = \frac{\nu_{Probe} - \nu_{Referenz}}{\nu_{Referenz}} \quad 2.6$$

Die NMR Spektroskopie wird in dieser Arbeit verwendet, um die erfolgreiche Synthese des fluorierten Monomers nachzuweisen.

Größenausschlusschromatographie

Die Chromatographie ist ein Trennverfahren und bezeichnet die Wechselwirkung von Analyten mit einer stationären und einer mobilen Phase. Stationär meint, dass die Phase innerhalb eines sogenannten Festbetts (oder Säule) unbeweglich bleibt. Hierzu können verschiedene Materialien (engl. resins) verwendet werden. Die mobile Phase strömt über das Festbett. Die Analyten befinden sich in der mobilen Phase und wechselwirken unterschiedlich stark mit der mobilen und stationären Phase, was zu unterschiedlichen Verweilzeiten der Analyten im Festbett führt, und sie das Festbett in zeitlich versetzter Reihenfolge verlassen. Dies führt zur Auftrennung der Analyten. Chromatographische Verfahren zeichnen sich durch ihre schonende Trennung und eine hohe Selektivität aus. (Chmiel et al. 2018)

Bei der Größenausschlusschromatographie (engl. Size Exclusion Chromatography, kurz SEC), wird nach der Molmasse aufgetrennt. Damit kann die Molmassenverteilung eines Gemischs bestimmt werden. In dieser Arbeit wird die SEC zur Bestimmung der Molmassenverteilung des erzeugten polymeren Füllstoffs im Vergleich zur Molmasse des Monomers verwendet. Jedes Makromolekül in einem Polymergemisch hat eine individuelle molare Masse. Die Auftrennung des Gemisches erfolgt durch eine Fraktionierung der Makromoleküle nach ihrer Größe mit Hilfe eines geeigneten Säulenmaterials. Große Moleküle fließen schneller als kleine Moleküle durch die Trennsäule (Simon 2019). Die Detektion und Analyse der Fraktionen erfolgen durch Messung des Brechungsindex (RI, engl. refraction index) oder der UV-Absorption. Bei der SEC werden die Molmassen M_i , die alle Makromoleküle des Polymers aufweisen, sowie der Anteil

jedes der Makromoleküle an der molaren Masse des Polymers bestimmt. Gebräuchliche Kennzahlen sind die zahlenmittlere (M_n) und die gewichtsmittlere (M_w) Molmasse. Ein Maß für die Breite der Molmassenverteilung ist die Polydispersität (PDI).

Die zahlenmittlere Molmasse M_n ist durch Gleichung 2.7 definiert, mit x_i Stoffmengenanteil der Komponente i , M_i Molmasse der Komponente i , n_i Stoffmenge der Komponente i

$$M_n = \sum x_i M_i \quad \text{mit } x_i = \frac{n_i}{\sum n_i} \quad 2.7$$

Die gewichtsmittlere Molmasse M_w ist durch Gleichung 2.8 definiert, mit w_i Massenanteil der Komponente i , M_i Molmasse der Komponente i , m_i Masse der Komponente der Komponente i .

$$M_w = \sum w_i M_i \quad \text{mit } w_i = \frac{m_i}{\sum m_i} \quad 2.8$$

Die Polydispersität PDI ergibt sich durch Gleichung 2.9:

$$PDI = \frac{M_w}{M_n} \quad 2.9$$

Ein weiterer Wert ist der Polymerisationsgrad DP , der in Kapitel 2.3.3 eingeführt wurde. Er bildet das Verhältnis aus der mittleren Molmasse eines Polymers M_n und der mittleren Molmasse des Monomers M_0 , vgl. Gleichung 2.10.

$$DP = \frac{M_n}{M_0} \quad 2.10$$

Gaschromatographie

Zur Überprüfung des Selbstheilungseffekts wird ein Aufbau entwickelt der die Gaschromatographie als Analysemethode verwendet. Die Gaschromatographie ist ein Trennverfahren für Gase. Die mobile Phase ist entsprechend gasförmig und strömt durch die stationäre Phase. Letztere kann sowohl fest als auch flüssig sein. (Gressner & Arndt 2019)

Mittels Gaschromatographie wird in dieser Arbeit die Molmasse des Wasserstoffs bestimmt, der durch die Membran tritt. Die Dichtigkeit der Membran kann darüber nachgewiesen werden. Für die Bestimmung der Membrandichtigkeit wird der Wasserstoffgehalt mit dem idealen Gasgesetz berechnet, siehe Gleichung 2.11:

$$n = \frac{p \cdot V}{R \cdot T} \quad 2.11$$

Dabei ist n die gesamte Stoffmenge des Gases, p der Druck des Gases (1,013 bar + Gasmischung Überdruck), V das Volumen des Gases (117,4 mL, welches das Volumen der Septumflasche ist), R die universelle Gaskonstante (8,314 J/mol*K) und T die Umgebungstemperatur (23 °C). Gasförmiges Wasser liegt bei Raumtemperatur nur sehr gering vor und wurde für diese Berechnung vernachlässigt. Die endgültige Gaskonzentration (GC%) des Wasserstoffs ergibt sich aus Gleichung 2.12:

$$n_{H_2} = n \cdot \frac{\text{GC \% von H}_2}{100 \%} \quad 2.12$$

Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometrie (ToF-SIMS)

Die Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometrie (ToF-SIMS) stellt eine oberflächenempfindliche Analysetechnik dar, welche zur Bestimmung der elementaren Zusammensetzung sowie molekularer Informationen über die Oberfläche einer Probe und deren Tiefenprofil zum Einsatz kommt. Diese Methode erlaubt detaillierte Einblicke in die chemische 3D-Zusammensetzung von Materialien. Ein Primärionenstrahl wird auf eine definierte Fläche der Probe gerichtet, wodurch Sekundärionen aus der Probenoberfläche freigesetzt werden. Diese Sekundärionen, die Fragmente der Probe darstellen, werden nach ihrer Masse getrennt. Die Massentrennung erfolgt gemäß dem Flugzeitprinzip (Time-of-Flight), wobei leichtere Ionen schneller den Detektor erreichen als schwerere. Dies ermöglicht eine hochpräzise spektrale Massenauflösung und eine genaue Abbildung der Probenoberfläche. Für die Erstellung eines Tiefenprofils wird ein Zweistrahlverfahren verwendet, bei dem eine Sputterkanone die Probe erodiert. In der vorliegenden Arbeit wird ToF-SIMS eingesetzt, um die An- und Einlagerung von Füllstoffen in eine Membran zu analysieren, indem sowohl die Oberfläche als auch das Tiefenprofil untersucht werden. Abbildung 2-15 zeigt das Prinzip der ToF-SIMS.

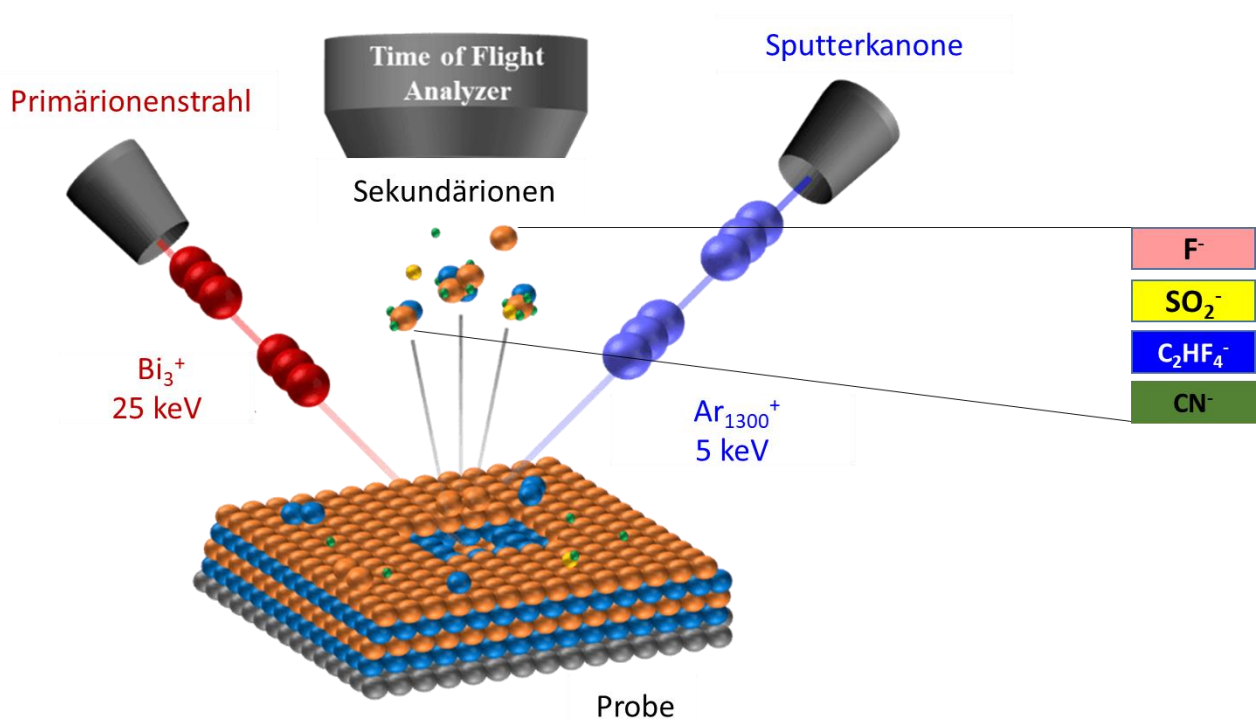


Abbildung 2-15: Prinzip der ToF-SIMS, modifiziert nach simslab.rice.edu²².

Thermische Analyseverfahren

Die dynamische Differenzkalorimetrie (engl. differential scanning calorimetry, DSC) ist ein thermisches Analyseverfahren zur Messung der abgegebenen oder aufgenommenen Wärmemenge einer Probe. Dieses Verfahren wird in dieser Arbeit zur Charakterisierung des erzeugten Polymers verwendet. Damit können die Glasübergangstemperatur T_g und, falls vorhanden, die Schmelztemperatur T_m eines Polymers bestimmt werden (Höhne et al. 1996). Mittels Thermogravimetrischer Analyse (TGA) ermöglicht die Ermittlung der Zersetzungstemperatur T_{deg} eines Polymers.

Fluorierte Polymere können sowohl amorphe als auch teilkristalline Eigenschaften aufweisen. Amorphe Fluorpolymere sind typischerweise nicht kristallin und haben keine klare Schmelztemperatur, sondern nur eine Glasübergangstemperatur (T_g). Die T_g ist die Temperatur, bei der ein amorphes oder teilkristallines Polymer von einem glasartigen in einen gummiartigen Zustand übergeht. Unterhalb der T_g sind Polymere spröde und hart, oberhalb der T_g sind sie zäh und flexibel.

²² <https://simslab.rice.edu/surface-analysis-lab/teaching-activities-resources/time-of-flight-secondary-ion-mass-spectrometry/>, aufgerufen 11.07.2024

Teilkristalline Polymere haben eine definierte Schmelztemperatur (T_m). Die T_m ist die Temperatur, bei der ein kristallines oder teilkristallines Polymer vom festen in den flüssigen Zustand übergeht. Oberhalb der T_m bricht die kristalline Struktur auf und das Polymer verliert seine strukturelle Integrität und Festigkeit.

Die Kristallisationstemperatur (T_k) eines Polymers ist die Temperatur, bei der das Polymer aus der Schmelze oder dem amorphen Zustand in eine kristalline Form übergeht. Dies ist der Punkt, an dem sich die Polymerketten zu einer geordneten, kristallinen Struktur organisieren, nachdem das Polymer abgekühlt oder in einem Zustand ist, in dem es kristallisieren kann.

Die Zersetzungstemperatur (T_{deg}) gibt an, bei welcher Temperatur chemische Bindungen im Material zu brechen beginnen, was zu einer Degradation, einem Verlust der physikalischen Eigenschaften und der Freisetzung von gasförmigen oder flüchtigen Produkten führen kann.

3 Stand der Forschung

Nach eingehender Motivierung und Erörterung des Problems des Leistungsverlustes von PEMFCs in Folge der Pinhole Bildung, sowie Erläuterung der relevanten Grundlagen zur Selbstheilung und zu biotechnologischen Methoden, wird der Stand der Forschung zur Lösung des Problems betrachtet. Dazu werden zunächst Anforderungen herausgearbeitet, die an den Lösungsansatz gestellt werden (Kapitel 3.1). Die vorliegenden Forschungsarbeiten umfassen drei Themenfelder. Ein Anspruch auf Vollständigkeit wird nicht erhoben. Kapitel 3.2 führt relevante Ansätze zur Optimierung der Lebensdauer von PEMFCs mit Fokus auf sogenannte „mitigation strategies“, also Strategien zur Schadensbegrenzung der PEM. In Kapitel 3.3 werden Ansätze für Selbstheilungsmechanismen in Polymeren betrachtet und in Kapitel 3.4 Ansätze für Selbstheilungsmechanismen in der PEM. Basierend darauf werden die Forschungsarbeiten verglichen, bewertet und das Forschungsdefizit abgeleitet (Kapitel 3.5).

3.1 Anforderungen an den Lösungsansatz

Die Arbeit basiert auf Anforderungen, die sich aus der Problemstellung und den forschungsleitenden Fragestellungen ergeben. Diese Anforderungen dienen als Maßstab zur Bewertung des aktuellen Forschungsstandes. Durch die Analyse des Erfüllungsgrades dieser Anforderungen lässt sich ein Forschungsdefizit identifizieren, auf das der Lösungsansatz dieser Arbeit abzielt.

(1) Die erste Anforderung an den Lösungsansatz betrifft die Anwendbarkeit der Lösung in der PEMFC. Wie in den Grundlagen erläutert, gibt es verschiedene Arten von Selbstheilungsmechanismen, die abhängig vom zu behandelnden Material und dessen Funktion sowie von den Umgebungsbedingungen wie Temperatur, Feuchtigkeit und Zugänglichkeit sind. In diesem Fall stellt der Aufbau und die Funktion der PEMFC die Rahmenbedingungen dar. Die Anwendung eines Selbstheilungsmechanismus muss mit dem Aufbau und den Betriebsbedingungen der PEMFC kompatibel sein.

(2) Die zweite Anforderung besteht darin, dass die Lösung sich als „effektiv“ gegen Pinholes in der PEM erweisen soll, um Leistungseinbußen zu vermeiden oder ihnen vorzubeugen und dadurch langfristig die Lebensdauer der PEMFC zu erhöhen. „Effektiv“ bedeutet, dass die Lösung entweder die Bildung von Pinholes verhindern kann oder einen Selbstheilungsmechanismus aufweist, der die Pinholes wieder verschließt.

(3) Als drittes Kriterium sollte die Lösung die Funktionalität der PEMFC so wenig wie möglich beeinträchtigen. Eine Beeinträchtigung könnte durch eine Änderung der Materialzusammensetzung der Membran verursacht werden, die beispielsweise die Protonenleitfähigkeit oder der Leistung der PEMFC beschränkt. Auf der anderen Seite könnten veränderte Materialien auch eine Verbesserung der Protonenleitfähigkeit bewirken. Auch Designänderungen jeglicher Komponenten der PEMFC oder veränderte Betriebsmodi könnten die Leistung beeinflussen. Zur Überprüfung sind Funktionsprüfungen erforderlich. Im Rahmen dieser Arbeit soll ausschließlich eine Abschätzung vorgenommen werden.

(4) Als viertes Kriterium sollte ein möglichst geringer Eingriff in das Membranmaterial erfolgen. Dies hat den Vorteil, dass Stabilität, Funktionalität und Leistungsfähigkeit der Membran bereits getestet wurden. Eine Neukonzeption des Membranmaterials birgt jedoch das Risiko neuer Eigenschaften, deren Langzeitverhalten für den Einsatz in PEMFC-Anwendungen noch nicht untersucht wurde.

(5) Die fünfte Anforderung ist die Mehrfachanwendbarkeit der Selbstheilung. Um das Problem nachhaltig zu lösen, sollte eine Lösung entwickelt werden, die mehrfach angewendet werden kann, um die Leistung langfristig auf einem hohen Niveau zu halten und die Lebensdauer zu verlängern. Es gilt: je häufiger, desto besser.

3.2 Strategien zur Schadensbegrenzung der PEM

Eine Mehrzahl der Forschungsarbeiten befasst sich mit Ansätzen zur Optimierung des Membranmaterials sowie mit Designoptimierungen anderer Komponenten als auch Systemoptimierungen der PEMFC, um die Pinhole Bildung zu verzögern.

Zur Optimierung der physikalischen Membraneigenschaften können Additive oder strukturelle Modifikationen des Polymers eingesetzt werden, die die mechanische Stabilität und Oxidationsbeständigkeit der Membran erhöhen. Kompositmembranen mit anorganischen Füllstoffen, metallorganischen Füllstoffen oder Füllstoffen aus ionischen Flüssigkeiten weisen dabei teilweise eine höhere Stabilität und eine bessere Protonenleitfähigkeit auf als reines Nafion™. Es ist jedoch zu beachten, dass eine Änderung der Designparameter der PEM, einschließlich der Membrandicke, des EW-Werts, der Zu-

sammensetzung und des Gehalts an Additiven, mit vielen Merkmalen der Betriebsstrategie des PEMFC Systems zusammenhängen und berücksichtigt werden müssen. (Bruijn et al. 2008; Wei et al. 2022; Xing et al. 2021)

Die Forschung fokussiert sich zunehmend auf die Entwicklung von PFAS-freien Materialien, sogenannten Polymer-Elektrolytverbundmembranen, die verschiedene multifunktionale organische, anorganische und hybride Füllstoffe enthalten. Diese Materialien basieren auf gänzlich anderen Protonenleitfähigkeitsmechanismen als NafionTM. Als Beispiele können Polyetherketon, sulfoniertes Polysulfon, sulfoniertes Polyimid oder sulfoniertes Polystyrol genannt werden. Diese Materialentwicklungen gibt es bereits seit Jahrzehnten, bisher jedoch ohne erkennbare Vorteile in Performanz und Verschleiß gegenüber den vorhandenen NafionTM Membranmaterialien (BMWI 2020). Obgleich sie einige Vorteile gegenüber NafionTM aufweisen, wie eine bessere Leitfähigkeit unter trockenen Bedingungen, niedrigere Herstellkosten und bessere Eigenschaften bei erhöhten Temperaturen, finden diese Materialien kommerziell bislang keine Anwendung in PEMFCs. NafionTM ist aufgrund seiner herausragenden chemischen, mechanischen und thermischen Stabilität sowie seiner besseren Protonenleitfähigkeit unter feuchten Bedingungen gegenüber den neuen Materialien überlegen. Es ist deshalb das am häufigsten verwendete Material in PEMFC Anwendungen. (Maiti et al. 2022; Ogungbemi et al. 2019)

Ein anderer Ansatz ist die Betriebsstrategie und das Energiemanagement der PEMFC zu optimieren, um Leerlaufzeiten und Betriebsschwankungen zu minimieren. Je aggressiver die Betriebsbedingungen und je häufiger und länger die Membran ihnen ausgesetzt ist, desto höher ist die Degradationsrate und die Wahrscheinlichkeit der Pinhole Bildung. Zwei Möglichkeiten der Optimierung des Temperaturmanagements sind die Einbringung von hydrophoben Polymeren in die GDL, was die Wasserdurchflussrate erhöht und zu einem höheren Wärmeabtransport führt, sowie die Verwendung eines externen Kühlsystems, das die Wärmeverteilung optimiert. (Phillips et al. 2018)

Des Weiteren können Designoptimierungen anderer PEMFC Komponenten die Membrandegradation reduzieren. Diese umfassen ein optimiertes Design des Strömungsfeldes, das eine gleichmäßige Verteilung der Temperatur sowie der Feuchtigkeit gewährleistet, ein optimiertes Design der BPP zur Gewährleistung einer gleichmäßigen Druckverteilung, sowie die Korrosionsbeständigkeit der BPP und ein besseres GDL-

Design zur Verringerung der Membranausbäulungen. Beispielsweise verringert die Einbringung einer Diffusionslage zwischen der CCM und der GDL die Faltenbildung der Membran. (Qiu et al. 2019)

Ein sicherlich sehr förderlicher Ansatz zur Reduktion der Pinhole Bildung ist die Vermeidung der Eintragung von Metallionen in die Membran. Metallionen fördern die Peroxidbildung und damit die chemische Degradation der Membran (Tang et al. 2021).

Eine weitere Strategie zur Schadensbegrenzung beginnt bereits im Fertigungsprozess und adressiert die Reduktion von Varianzen. Das Aufbringen einer ungleichmäßigen Klemmspannung im Stacking der PEMFC sowie ungleichmäßige Beschichtungsdicken der Elektroden fördern die spätere Membrandegradation unter den einwirkenden Belastungszyklen. (Phillips et al. 2018)

3.3 Ansätze zu Selbstheilungsmechanismen in Polymeren

Eine weitere Option zur Optimierung der Lebensdauer der PEM sind Selbstheilungsmechanismen. Selbstheilungsmechanismen bieten das Potential, kostengünstig und frühzeitig eine *in-situ* Reparatur eines Materials durchzuführen und damit die Lebensdauer, Funktionalität und Sicherheit der PEMFC effektiv zu verbessern, wo ein Austausch oder die klassische Reparatur ökologisch und wirtschaftlich ineffizient sind. Für Polymere im Allgemeinen (Kapitel 3.3), als auch für PEM (Kapitel 3.4) wurden folgende Selbstheilungsansätze entwickelt.

White et al. (2001) publizierten 2001 erstmals einen extrinsischen Ansatz zur Selbstheilung von Polymeren im Journal *Nature*. Der Ansatz beruht auf Mikrokapseln, die ein Monomer enthalten (10 Gew.-%) und einen Katalysator (2,5 Gew.-%). Beides ist in eine Epoxidmatrix eingebettet. Wenn ein Riss durch eine Kapsel verläuft, tritt der Füllstoff aus der Kapsel aus und kommt mit dem Katalysator in Kontakt. Der Katalysator leitet eine Polymerisation des Monomers ein, das Polymer verfestigt sich am Riss und verhindert eine weitere Ausdehnung. Dies ist die erste Anwendung einer *in-situ* Polymerisation zum Zwecke der Selbstheilung. White et al. kritisieren, dass eingebettete Kapseln die Protonenleitfähigkeit der Membran in der Regel reduzieren. Zudem sei der Herstellungsprozess kompliziert.

Selbstheilende leitfähige Elastomere, u.a. für die Anwendung in Energiespeichern, werden vielfach entwickelt (Cao et al. 2017; Cao et al. 2018; Wang & Pan 2017; Zhang &

Cicoira 2017). Die autonome Selbstheilung ist durch die chemische Struktur des Polymers bedingt und kann unter anderem durch Wasser getriggert werden. Für die Selbstheilung von Lithium-Polymer-Batterien wurden ebenfalls mehrere intrinsische Ansätze entwickelt (Deng et al. 2022; Jo et al. 2020; Wan et al. 2023; Whiteley et al. 2015; Wu et al. 2019; Zhou et al. 2018).

Eine heilende Beschlag- und Frostschutzbeschichtung aus einem Polyvinylalkohol–Nafion™ Komplex für Brillengläser wurde von Li et al. (2016b) entwickelt. Durch den Kontakt mit Wasser werden mehrere hundert Mikrometer große Kratzer geheilt. Dies basiert auf reversiblen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Polyvinylalkohol und Nafion™.

Ein weiteres Anwendungsgebiet sind selbstheilende Textilien. Das Textil ist mit sogenannten *squid-ring-teeth* Proteinen beschichtet. Das ist ein Strukturprotein des Tintenfisches mit selbstheilenden Eigenschaften. Enkapsulierte Enzyme können zudem integriert werden und die Selbstheilungseigenschaften stärken. (Gaddes et al. 2016)

Polymere Hydrogele verwenden eingebettete Enzyme zur Selbstheilung. Ein Hydrogel ist ein dreidimensionales Netzwerk aus hydrophilen Polymeren, das eine große Menge Wasser speichern kann. Hydrogele werden als Wundauflagen, als System zur Medikamentenverabreichung oder als Gerüst zur Gewebezüchtung verwendet (Quan et al. 2022). Bei Rissbildung im Netzwerk dienen die Enzyme als Katalysator und vernetzen die Polymere wieder. (Biffinger et al. 2004; Esser-Kahn et al. 2010; Li et al. 2016a; Li et al. 2020b; Long et al. 2018)

Ein anderes Anwendungsgebiet, das Enzyme zur Selbstheilung nutzt, ist Zement. Bakterielle Sporen, die das Enzym „Carbonische Anhydrase“ produzieren, sind in Partikeln in den Zement eingebettet. Dringt durch einen Riss Regenwasser ein und trifft auf einen Partikel, quellen die Sporen und der biochemische Zweikomponentenwirkstoff aus dem Partikel wird freigesetzt. Der Zweikomponentenwirkstoff besteht aus den bakteriellen Sporen und Kalziumlaktat. Die anschließende enzymatisch katalysierte Kalziumkarbonatbildung führt zu einem physikalischen Verschluss der Mikrorisse. (Qian et al. 2015; Wiktor & Jonkers 2011)

3.4 Ansätze zu Selbstheilungsmechanismen in PEM

Die Entwicklung selbstheilender Polymerelektrolyte ist nach Aussagen der Literatur von entscheidender Bedeutung, um Haltbarkeit, Leistung und Zuverlässigkeit von Energiespeichern zu verbessern (Huang et al. 2022). Es wird erwartet, dass die Einführung von Selbstheilungsmechanismen in flexiblen Energiespeichern die Probleme der mechanischen und elektrochemischen Leistungsver schlechterung lösen wird (Wan et al. 2023). Die Literatur erwähnt vier Ansätze zur Selbstheilung von PEM, sowohl extrinsischer als auch intrinsischer Natur. Enzymatisch katalysiert ist dabei keiner.

Das Patent US20170209837A1 der Universität von Delaware verfolgt einen Selbstheilungsmechanismus durch in die NafionTM Membran eingebrachte Mikrokapseln (Wang & Pan 2017). Die Mikrokapseln sind mit einer flüssigen NafionTM Lösung befüllt. Bei Rissbildung wird die Kapsel zerstört, das flüssige NafionTM dringt aus und versiegelt idealerweise den Riss. Das Patent beschreibt einen weiteren Ansatz bei dem Hohlfasern mit flüssigem NafionTM in die Membran eingebracht werden. Die Herstellung der Membran differiert hierbei gänzlich vom industriellen Verfahren. Zur Integration der Kapseln muss flüssiges NafionTM mit den Kapseln vermischt und anschließend getrocknet werden. Die Integration der Kapseln ab 10 Gew.-% beeinträchtigt die Funktionsfähigkeit der PEMFC deutlich. Bei 6 Gew.-% ist eine ähnliche Funktionsfähigkeit wie bei der nicht modifizierten Membran zu sehen. Es ist zu hinterfragen, ob die Effektivität der Versiegelung von Rissen und die Abdeckung der gesamten Fläche durch einen Gehalt von 6 Gew.-% gewährleistet werden kann. Ist an einer Stelle ein Mikroriss versiegelt worden, ist die Kapsel aufgebraucht. Bei erneuter Rissbildung an derselben Stelle, kann keine Selbstheilung bzw. Versiegelung mehr erfolgen.

Das Patent DE10312029A1 beschreibt ebenfalls einen temperaturgesteuerten Selbstheilungsmechanismus (Böhm & Finsterwalder 2004). Auch hierfür wird die NafionTM Membran grundlegend modifiziert. Der Aufbau beschreibt ein dreilagiges Membransandwich aus porösem nicht-ionenleitendem Polyvinylidenfluorid und porösem Polypropyl. NafionTM wird als ionenleitendes Material in die porösen Strukturen flüssig zugeführt und getrocknet. Anschließend wird das Sandwich mit der Katalysatortinte beschichtet. Eine Rissbildung geht mit einem lokalen Temperaturanstieg einher; dieser lässt das nicht-ionenleitende Material schmelzen und versiegelt den Riss. Der Sandwich-artige Aufbau gewährleistet eine gleichmäßige Verteilung des NafionTM über die

gesamte Fläche der Membran, wodurch eine mehrfache Selbstheilung ermöglicht wird. Eine ungelöste Herausforderung ist, das ionenleitende Material nicht ebenfalls zu schmelzen. Eine definierte Festlegung des Temperaturgradienten ist dabei als sehr schwer steuerbar zu erachten. Die Effektivität der Rissversiegelung ist somit fraglich. Ob eine Beeinträchtigung der Funktionsfähigkeit der PEMFC, verursacht durch den verschiedenartigen Aufbau oder die variierende Zusammensetzung der PEMFC, vorliegt wurde nicht untersucht.

Li et al. veröffentlichen zwei intrinsische selbstheilende Materialien für eine DMFC sowie für die PEMFC (Li et al. 2020a; Li et al. 2018c). In beiden Brennstoffzellentypen wird aktuell NafionTM als Membran verwendet. Das neu entwickelte Material soll das bisher verwendete NafionTM ersetzen. Die Selbstheilung beruht im Falle der DMFC auf Wasserstoffbrückenbindungen zwischen NafionTM und Polyvinylalkohol. Des Weiteren wurde das Material mit 4-Carboxybenzaldehyd-Molekülen postmodifiziert, was zu einer Optimierung der Wasser- bzw. Methanolaufnahmefähigkeit und des Schwellverhaltens der Membran führen soll. Die Aufnahmefähigkeit der Membran von Methanol konnte so um 75 % reduziert werden. Das Ergebnis sind verbesserte mechanische Eigenschaften sowie eine 1,2-mal höhere Leitfähigkeit als bei normalem NafionTM. Allerdings ist eine Heilung von Rissen mit einer Größe im Bereich von Zehntel-Mikrometern lediglich möglich.

Im Falle der PEMFC basiert das Material auf Polyvinylalkohol und Phytinsäure. Die Selbstheilung wird durch elektrostatische Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Atomen ermöglicht. Die Membran weist andere Eigenschaften als NafionTM auf. Die Selbstheilung wird durch eine Temperatur von 70 °C und Wasser initiiert und soll während des Betriebs der PEMFC stattfinden. In der vorliegenden Arbeit wurde dies jedoch nicht gezeigt, sondern explizit vermieden, da dies als zu gefährlich erachtet wurde. Stattdessen wurde eine *ex-situ* geheilte Membran präsentiert, die nach der Heilung die gleichen Eigenschaften aufwies wie zuvor. Die Anwendbarkeit der neuen Membran in der PEMFC in Langzeitstudien ist bislang nicht untersucht worden, weder im Normalbetrieb noch mit *in-situ* Selbstheilung.

3.5 Übersicht Lösungsoptionen und Forschungsdefizit

Das Zusammenspiel der Degradationsmechanismen führt zu Pinholes in der Membran und resultiert in einem Leistungsabfall und dem frühzeitigen Lebensende der PEMFC. Optionen um Pinholes zu beheben sind Schadenbegrenzungsstrategien, die das Ausmaß des Schades begrenzen sollen, sowie Selbstheilungsmechanismen (siehe Tabelle 3-1).

Schadenbegrenzungsstrategien fokussieren sich auf die Erhöhung der Membranstabilität durch Kompositmaterialien, Designänderungen der Systemkomponenten sowie optimierte Betriebsmodi. Schadenbegrenzungsstrategien sind jedoch lediglich in der Lage, den Schaden zu begrenzen, jedoch nicht, ihn zu beheben. In der Summe kann eine Anwendung der Schadensbegrenzungsstrategien sicherlich positiv wirken und moderate Temperaturen, Drücke sowie eine gleichverteilte Feuchtigkeit in der Zelle gewährleisten. Aber auch die perfekte Betriebsstrategie und das optimierte Design der Komponenten würde die Degradation und Pinhole Bildung in der Membran nur hinauszögern, denn ein gewisses Maß an chemischem Ionomerabbau und Membranausdünnung ist selbst bei moderatem Betrieb der PEMFC unvermeidlich (Liu et al. 2006; Wallnöfer-Ogris et al. 2024). Auch ein leistungsfähigeres Material, wie ein Nafion™ -Komposit-Material, kann Verschleiß und Pinholes auf Dauer nicht verhindern, Lebensdauer und Leistung werden kontinuierlich verringert (Carrillo et al. 2012; Li et al. 2016a). Auch PFAS-freie Membranentwicklungen stellen bisher keine Alternative dar. Sie können mit den besonderen Eigenschaften der Nafion Membran, nämlich eine hohe Protonenleitfähigkeit bei gleichzeitiger mechanischer, thermischer und chemischer Stabilität zu gewährleisten, bislang nicht mithalten. Nicht ohne Grund wird Nafion™ umfassend in PEMFC eingesetzt.

Die bisherigen Selbstheilungsmechanismen in PEM, die in der Literatur genannt sind, sind ebenso wenig ausreichend effektiv, um die Defekte langfristig zu beheben. Die extrinsischen Mechanismen, die Kapseln oder Kompositmaterialien zur Selbstheilung nutzen, sind auf eine Einmalanwendung an einer bestimmten Stelle in der Membran beschränkt. Zudem wird die Membran zur Integration der Kapseln/ Kompositmaterialien grundlegend modifiziert, was nachweislich die Leistung der PEMFC negativ beeinflusst.








































































Intrinsische Selbstheilungsmechanismen hingegen haben den klaren Vorteil eine autonome und wiederholbare Selbstheilung zu ermöglichen. Dennoch handelt es sich um

eine Materialneuentwicklung, die eine negative Einwirkungen auf Stabilität, Funktionalität und Performanz der Membran haben kann und vor allem eine Systemneuqualifikation notwendig macht. Dies muss in Langzeitstudien für den Einsatz in PEMFC untersucht werden. Ebenso muss die Materialentwicklung für die schwankenden Betriebsbedingungen ausgelegt sein. Beides ist für die im Stand der Forschung beschriebenen Lösungen bisher unzureichend erfolgt und würde einen hohen Aufwand erfordern. Zudem müsste ein neuer Fertigungsprozess etabliert werden.

Es gibt bereits mehrere Ansätze zur Selbstheilung von PEM, aber keiner von ihnen kombiniert die Fähigkeit, mehrere Selbstheilungszyklen mit minimalen Eingriffen in das Membrandesign durchzuführen.

Der zu entwickelnde Selbstheilungsansatz soll die genannten Anforderungen erfüllen. Er soll auf die Anwendung in der PEMFC ausgelegt sein (1), er soll die Pinholes effektiv heilen (2) und dabei die Funktionalität der PEMFC so geringfügig wie möglich beeinträchtigen (3). Des Weiteren soll zur Umsetzung des Selbstheilungsmechanismus eine minimal mögliche Modifikation der Membran stattfinden, anstatt das Membranmaterial neu zu entwickeln (4) und zugleich soll er den Vorteil der intrinsischen Selbstheilung, nämlich die Funktion der mehrfachen Selbstheilung, erfüllen (5). Es gibt bisher keinen Ansatz, der eine mehrfache Selbstheilung ermöglicht und gleichzeitig möglichst geringfügig das Material mitsamt seinen Eigenschaften beeinflusst.

Tabelle 3-1: Übersicht der Lösungsoptionen und deren Bewertung zur Behebung von Pinholes in PEM.

Anforderungen  erfüllt  teilweise erfüllt  nicht erfüllt N/A keine Angabe	Autor & Jahr	Anwendung in PEMFC	Effektiv gegen Defekte	Geringfügige Beeinträchtigung der Funktionalität der Anwendung	Geringfügige Modifikation der Membran /des Materials	Mehrfachanwendung der Selbstheilung
Schadensbegrenzungsstrategien der PEM						
Nafion™ -Kompositmaterialien verwenden	Bruijn et al. 2008; Wei et al. 2022; Xing et al. 2021					N/A
PFAS freie Membranmaterialien verwenden	Maiti et al. 2022; Ogungbemi et al. 2019					N/A
Veränderung Betriebsmodus	Phillips et al. 2018					N/A
Designänderung GDL / BPP	Qiu et al. 2019					N/A
Vermeidung Eintragung Metallionen	Tang et al. 2021					N/A
Fertigungstoleranzen einhalten	Phillips et al. 2018					N/A
Selbstheilungsmechanismen in Polymeren						
Chem. katalysierte in-situ Polymerisation von Epoxidharzen mit Monomerkapseln	White et al. 2001					
Intrinsisch selbstheilende Elastomere	Cao et al. 2018; Wang & Pan 2017; Zhang & Cicoira 2017			N/A		
Intrinsisch selbstheilende Elektroden für Lithium-Ionen-Batterien	Deng et al. 2022; Jo et al. 2020; Wan et al. 2023; Whitley et al. 2015; Wu et al. 2019; Zhou et al. 2018			N/A		
Intrinsisch selbstheilende Nafion™ - PVA-Membran für Brillengläser	Li et al. 2016b					
Intrinsisch selbstheilende Textilien mit SRT-Protein durch Quervernetzung	Gaddes et al. 2016					
Enzymatische Selbstheilung von Hydrogelen durch Quervernetzung	Long et al. 2018			N/A		
Enzymatische Selbstheilung von Zement mit Substratkapseln	Wiktor & Jonkers 2011			N/A		
Selbstheilungsmechanismen in PEM						
Füllstoffkapseln	Wang & Pan 2017					
Kompositmaterial mit temperaturgesteuerter Selbstheilung	Böhm & Finsterwalder 2004			N/A		
Intrinsisch selbstheilendes Nafion™-Komposit für DMFC	Li et al. 2020a					
Intrinsisch selbstheilende Materialneuentwicklung für PEMFC	Li et al. 2018c			N/A		

4 Enzymatischer Selbstheilungsmechanismus für PEM

Als Vorgehensmodell dieser Dissertation eignet sich die *Concept Development & Experimentation* Methode (engl. für Konzeptentwicklung und Experimente, CD&E) (Honekamp 2008). CD&E ist ursprünglich ein Vorgehensmodell der Bundeswehr. Dabei werden in einem iterativen Prozess Ideen durch wechselseitige Konzeptentwicklung und experimentelle Überprüfung unter Anwendung wissenschaftlicher Methoden auf ihren Nutzen untersucht. Die CD&E Methode berücksichtigt optimal die forschungsleitenden Fragestellungen dieser Dissertation (vgl. Kapitel 1.2). Abbildung 4-1 zeigt, basierend auf der CD&E Methode, das Vorgehen zur Entwicklung des Selbstheilungsmechanismus für PEM.

Ausgehend von den *Grundlagen* wurden in der Phase der *Konzeptentwicklung* zuerst Anforderungen an den Selbstheilungsmechanismus der PEM formuliert (vgl. Kapitel 3.1). Basierend auf den Anforderungen wird ein Konzept für einen möglichen Selbstheilungsmechanismus für die PEM ausgestaltet. Alternativen des Konzepts werden aufgezeigt und dem gewählten Konzept gegenübergestellt. Um die Machbarkeit des Konzeptes zu demonstrieren, werden im Folgenden experimentelle Zielstellungen formuliert.

Die Phase *Demonstration & Experimente* ist untergliedert in die *Vision*, sowie in die experimentellen *Phasen I und II*. Die Vision beinhaltet die experimentellen Zielstellungen, die zur Demonstration des Konzepts (proof-of-concept) erfüllt werden müssen. Zum Erreichen der Vision werden spezifische Teilexperimente in Phase I und II abgeleitet. Da die experimentellen Untersuchungen umfangreich sind, werden sie in zwei Phasen aufgeteilt. Diese Dissertation beschränkt sich auf die Konzeptentwicklung und die Phase I. Zukünftige Experimente der Phase II leiten sich aus den Ergebnissen der Phase I ab und werden im Ausblick (Kapitel 6.2) skizziert.

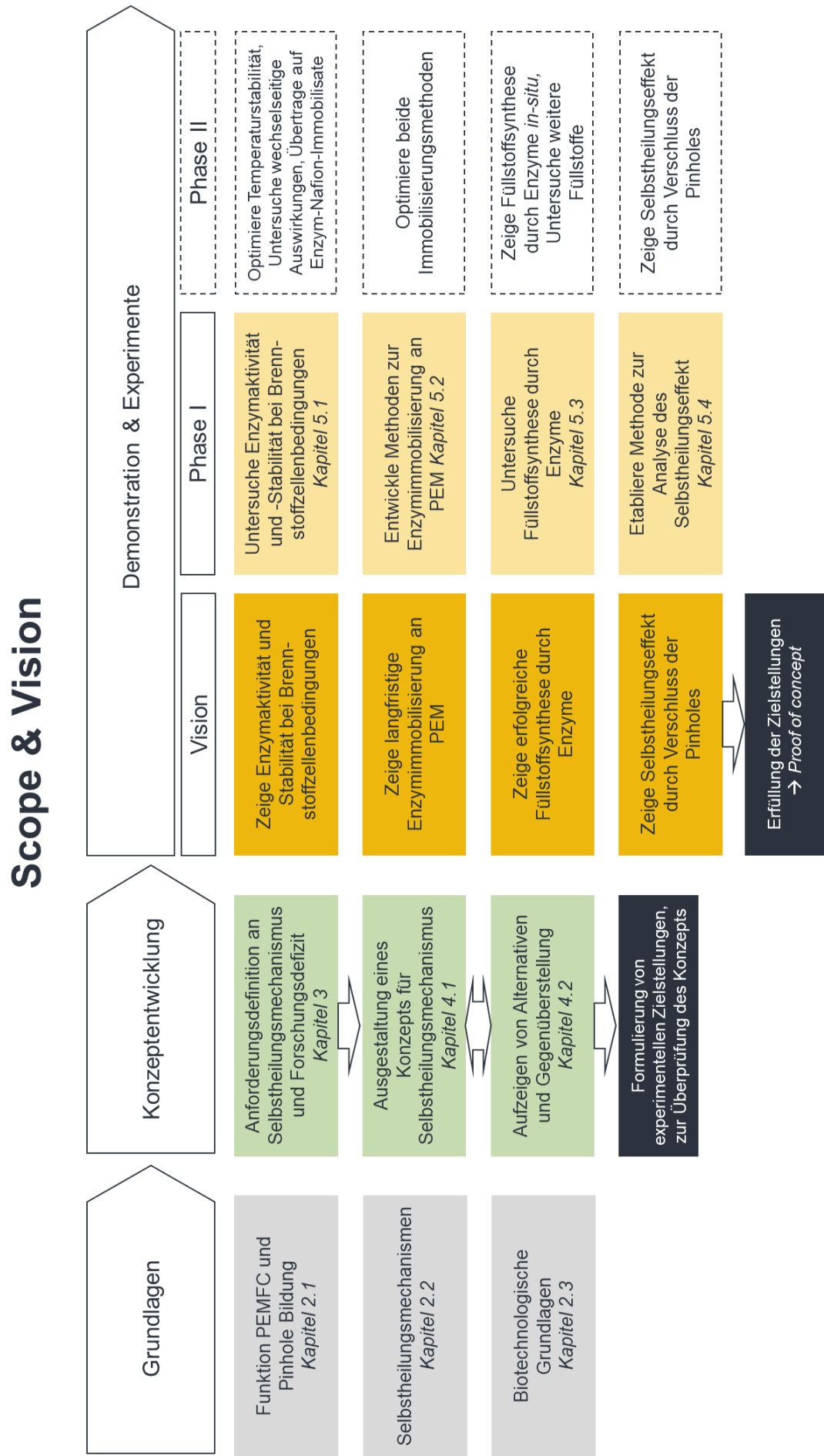


Abbildung 4-1: Vorgehensmodell zur Entwicklung eines Selbstheilungsmechanismus für PEM orientiert an der Concept Development & Experimentation (CD&E) Methode.

4.1 Konzeptausgestaltung

Ziel dieser Arbeit ist die Etablierung eines Selbstheilungsmechanismus, um Pinholes in der PEM zu verschließen. Dazu wird ein Ansatz verfolgt, der eine mehrfache Selbstheilung bei minimaler Membranintervention realisieren soll. Abbildung 4-2 zeigt wie der Lösungsansatz die aufgestellten Anforderungen aus Kapitel 3.1 erfüllt.

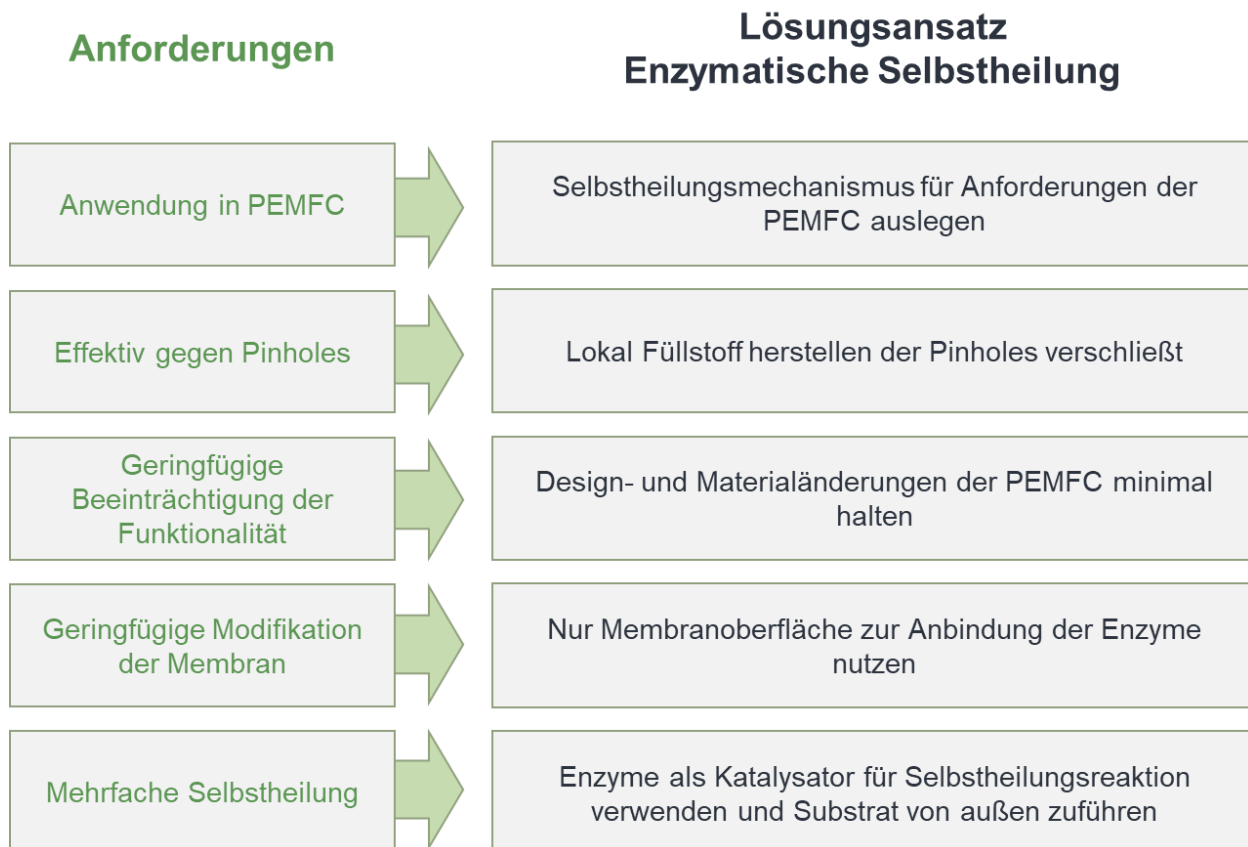


Abbildung 4-2: Anforderungen und Lösungsansatz.

Der Selbstheilungsansatz beruht auf füllstoffbildenden Enzymen. Die Enzyme dienen als Biokatalysatoren und sind auf der Membranoberfläche immobilisiert. Zur Selbstheilung wird ein Substrat (Monomer) zugeführt. Die Enzyme setzen das Monomer per enzymatischer Polymerisation in einen Füllstoff um. Der Füllstoff versiegelt die Defekte in der Polymermembran durch Haftung mit der Membran, siehe Abbildung 4-3.

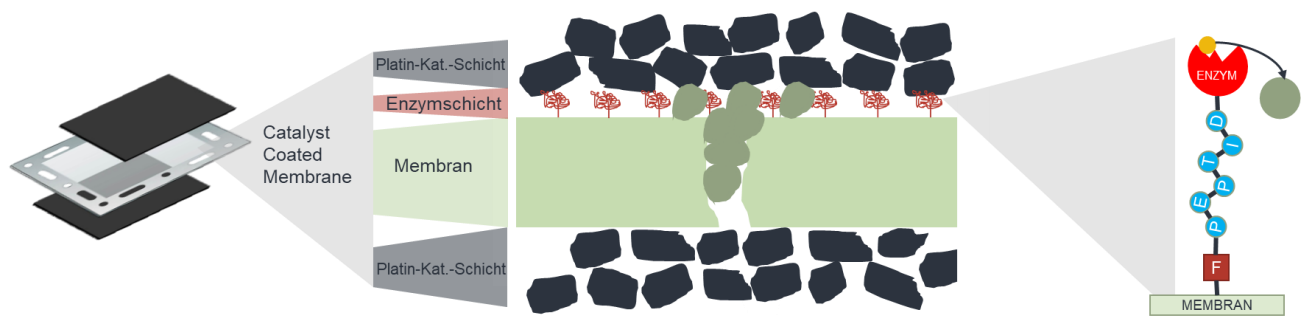


Abbildung 4-3: Skizze der selbstheilenden PEM.

Im Folgenden wird erläutert wie sich die formulierten forschungsleitenden Fragestellungen (vgl. Kapitel 1.3) umsetzen lassen.

1. Gezielte Positionierung des Füllstoffs

Der Selbstheilungsmechanismus soll eine Füllstoffzufuhr gewährleisten, die nicht restriktiv ist, damit mehrfach eine Selbstheilung durchgeführt werden kann. Mikrokapseln oder Kapillaren, wie sie in anderen Selbstheilungsansätzen verwendet werden, sind aufbrauchbar. Stattdessen soll der Füllstoff für jeden Selbstheilungszyklus der PEM über den Gaseinlass der PEMFC von außen zugeführt werden. Um eine zielgerichtete Akkumulation des Füllstoffs am Pinhole zu gewährleisten, muss die Zugänglichkeit des Füllstoffs zu den Pinholes gewährt sein und die Ablagerung des Füllstoffs an anderen Stellen der Membran vermieden werden. Um diese Herausforderungen zu lösen, wird nicht der letztendliche Füllstoff selbst zugeführt, sondern der Füllstoff wird erst am Pinhole, also *in-situ*, erzeugt. Dies erfolgt durch eine ortsgerichtete Polymerisationsreaktion. Dabei reagieren Monomere mittels Enzymen zu Polymeren, also dem Füllstoff. Der PEMFC werden also Monomere zugeführt, die erst an der Membran durch die Enzyme zum letztendlichen Polymer umgesetzt werden. Die Monomere sind deutlich kleiner als das Polymer, womit sie den Weg zum Pinhole finden. Wie in Kapitel 2.3.1 dargestellt, weisen Enzyme den Vorteil einer hohen Spezifität bezüglich der Katalyse bestimmter chemischer Reaktionen sowie einer maßgeschneiderten Anpassung auf. Daher sollte eine geeignete Kombination aus Enzym und Monomer die lokale Füllstoffentstehung am Pinhole sowie dessen Verschluss ermöglichen. Ein weiterer Vorteil biolo-

gischer Katalysatoren im Vergleich zu chemischen Katalysatoren ist die deutlich niedrigere Temperatur und der niedrige Umgebungsdruck, die sie für die Reaktion benötigen. Eine schematische Darstellung des geplanten Selbstheilungsmechanismus ist in Abbildung 4-4 zu sehen.

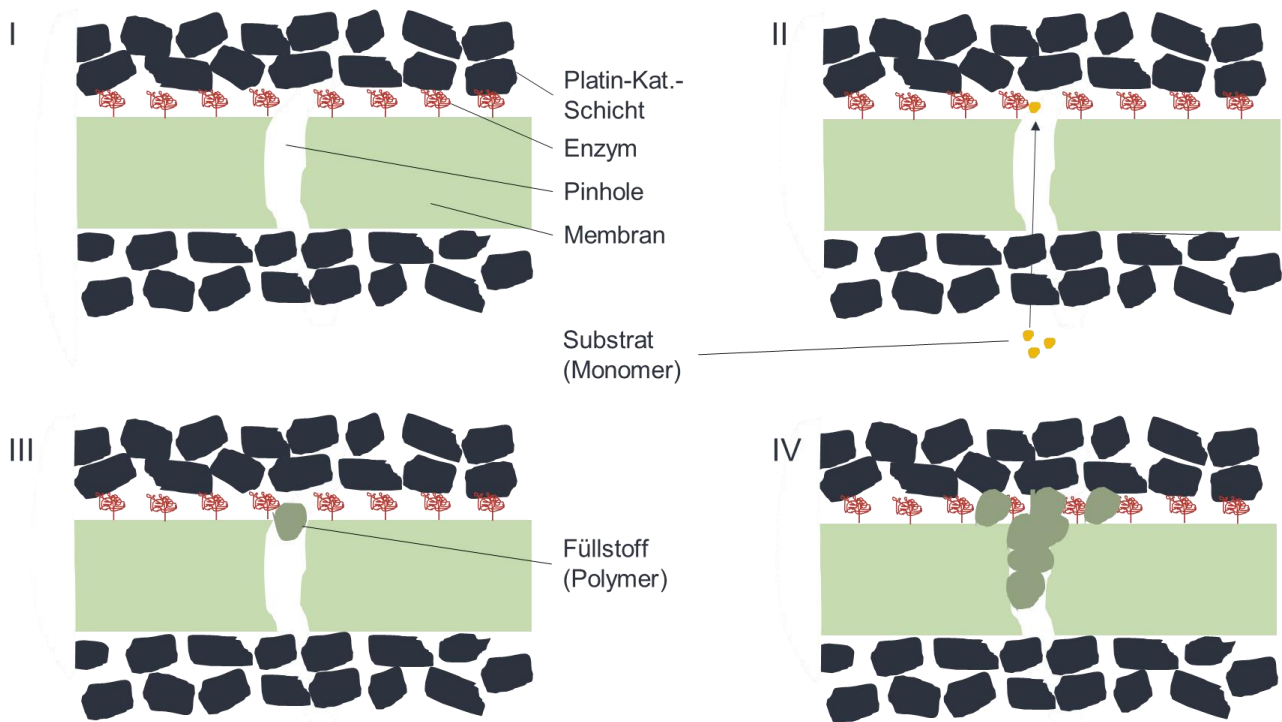


Abbildung 4-4: Aufbau der mit Enzymen modifizierten PEM zur Realisierung des biohybriden Systems. I. Immobilisierung der Lipasen II. Zuführung Substrat (Monomer) III. Biokatalytische Füllstoffproduktion durch Polymerisation IV. Schließen des Pinholes durch Haftung des Polymers (Gartner et al. 2023a).

Hierzu werden in einem ersten Schritt Enzyme an der NafionTM Membran immobilisiert. Dadurch wird lediglich die Membranoberfläche durch die Enzymmodifikation verändert (I). Zur Selbstheilung wird dann ein Monomer durch die Gas-Ein- und -Auslässe der PEMFC von außen zugeführt werden. Das Monomer wird von der anderen Seite als die Enzyme der PEMFC zugeführt. So ist sichergestellt, dass das Monomer ausschließlich durch die Pinholes zu den Enzymen gelangt (II). Damit ist gewährleistet, dass das Monomer nur lokal am Pinhole von den Enzymen zu einem polymeren Füllstoff umgesetzt wird (III). Schritt II-IV sollen durchgeführt werden, wenn die PEMFC nicht in Betrieb ist, um für die Polymerisation optimale Reaktionsbedingungen zu schaffen. Das entstehende Polymer soll als Füllstoff an der Membran haften und so das Pinhole verschließen (IV).

Eine Einschränkung im Konzept besteht darin, dass die Selbstheilung nicht präventiv durchgeführt werden kann, sondern nur bei durchgängigen Pinholes durch die Membran. Die Reaktionsführung ist so ausgelegt, dass das Monomer durch die Pinholes zu den Enzymen gelangt, um die ortsgerichtete Polymerisation zu realisieren. Dazu müssen die Pinholes die Membran durchdringen. In der Regel sind Pinholes sowohl durch die Membran als auch durch die gesamte CCM durchgängig und entstehen hauptsächlich in der Nähe der Gas-Ein- und -Auslässe.

Die neu zu integrierenden Bestandteile des Selbstheilungsmechanismus – Enzym und Füllstoff – stehen in einem engen Zusammenhang mit der Membran siehe Abbildung 4-5. Ihre Eigenschaften sind voneinander abhängig: Die Membran dient als Ankerpunkt für die Anbindung des Enzyms, welches in der Lage sein muss, den Füllstoff zu katalysieren. Gleichzeitig muss der Füllstoff die Pinholes in der Membran verschließen. Die Betriebsbedingungen einer PEMFC stellen dabei eine anspruchsvolle Umgebung für die biochemischen Substanzen dar, was eine sorgfältige Auswahl geeigneter Enzyme und Füllstoffe notwendig macht.

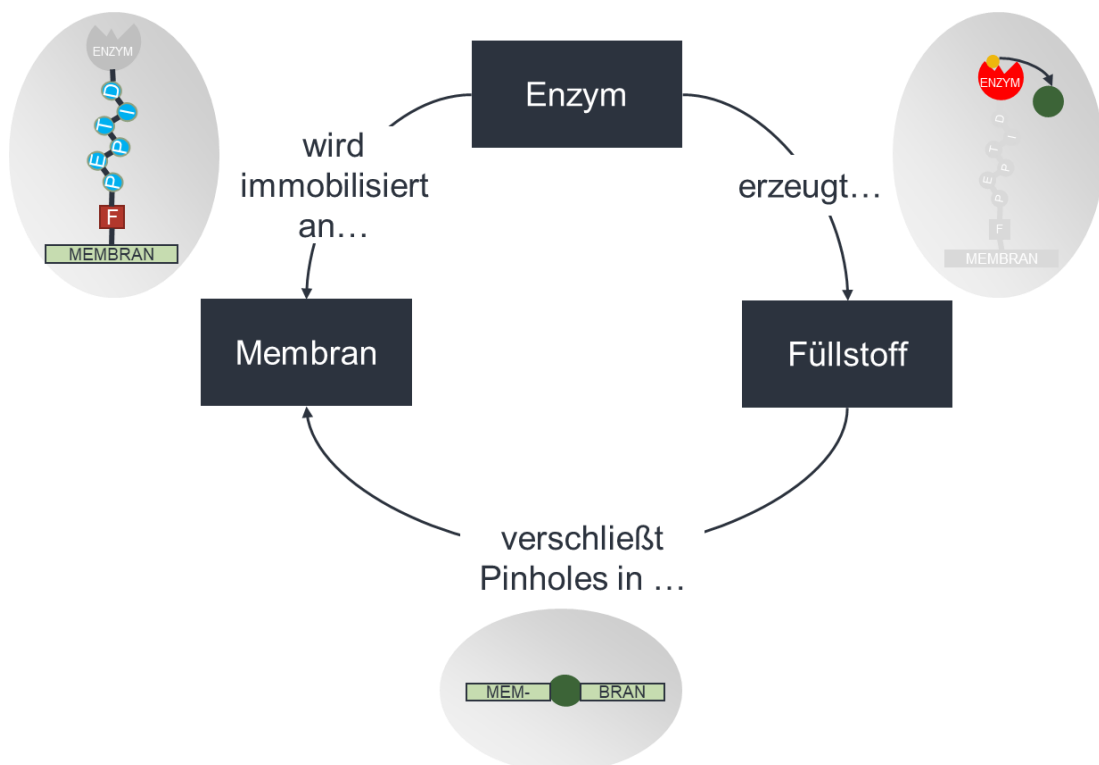


Abbildung 4-5: Zusammenhang zwischen Enzym – Füllstoff aus Monomer – Membran.

2. Enzymauswahl

Wichtige Kriterien für die Auswahl potenzieller Enzyme sind:

Kompatibilität mit Betriebsbedingungen: Das Enzym muss unter den Betriebsbedingungen der PEMFC stabil bleiben, was Temperaturen von 60 – 80 °C und einen sauren pH-Wert von 3 umfasst. Es muss zudem in der Lage sein, Feuchtigkeitszyklen (10 – 100 %) und die Exposition gegenüber Wasserstoff bzw. Sauerstoff (bis zu ~100 %) zu überstehen. Es ist entscheidend, dass das Enzym unter diesen Bedingungen seine natürliche Struktur und Stabilität beibehält, ohne zwangsläufig seine maximale Aktivität zu erreichen. Die maximale Aktivität wird nur während der Selbstheilung benötigt. Um Flexibilität zu gewährleisten, sind Selbstheilungs- und Normalbetriebsmodus entkoppelt, was als *Decoupled Functionality* bezeichnet wird.

Langzeitstabilität: Die Vorgaben der Lebensdauer von 8000 Betriebsstunden der PEMFC entsprechen ca. 333 Tage à 24 h. Experimente über 333 Tage sind im Rahmen der Arbeit nicht realisierbar. Selbstheilungszyklen im ersten Viertel der Nutzungsdauer könnten bereits die Lebensdauer der PEMFC signifikant erhöhen. Unter dieser Annahme sollten die Enzyme idealerweise 83 Tage stabil gegenüber den Bedingungen sein. Untersuchungen über einen Zeitraum von 28 Tagen sollen eine erste Abschätzung ermöglichen.

Kompatibilität mit Produktionsbedingungen: Im Herstellungsprozess soll die Enzymschicht vor der Platin-Katalysatorschicht an die Membran angebracht werden. Entsprechend müssen die Enzyme die nachfolgenden Fertigungsprozesse, insbesondere die Aufbringung der Platin-Katalysatorschicht mittels Direktbeschichtung, überstehen. Die Abstimmung von Enzym und Lösungsmittel sind entscheidend, da die Kontaktzeit des Lösungsmittels mit dem Enzym bis zur vollständigen Verdunstung je nach Verfahren unterschiedlich ist.

Immobilisierung: Das Enzym muss auf der Oberfläche der Membran immobilisiert werden können. Die Immobilisierung ist grundsätzlich für jedes Enzym möglich, die geeignete Methode hängt jedoch vom Trägermaterial ab.

Fähigkeit zur Synthese eines polymeren Füllstoffs: Das Enzym muss in der Lage sein, einen polymeren Füllstoff zu synthetisieren, der die Pinholes in der Membran verschließt. Besonders Lipasen eignen sich zur Synthese vieler Polymere.

Eine erste Abschätzung geeigneter Enzyme erfolgte anhand von Literaturangaben, basierend auf der Temperaturstabilität, der Fähigkeit zur Synthese eines polymeren Füllstoffs, der Kosten und der Aktivität. Als Modellenzyme wurden die Lipase aus *Candida rugosa* (CRL) und die Lipase aus *Candida antarctica* (CALB) ausgewählt. CALB bietet eine höhere Temperaturstabilität und Aktivität, während CRL kostengünstiger ist. Die immobilisierte Form der CALB: Novozym 435 (N435) wurde außerdem ausgewählt, wegen besonders hoher Aktivität und umfassender Studien zur Polymerisation. Die Eigenschaften der ausgewählten Enzyme wurden in Kapitel 2.3.1 beschrieben. Beide Enzyme werden experimentell auf ihre Eignung hinsichtlich der gestellten Kriterien untersucht.

3. Immobilisierung der Enzyme

Um eine Beeinträchtigung der Membran und ihrer Funktion zu vermeiden, sollen die Enzyme unter möglichst geringer Modifikation der Membran an deren Oberfläche immobilisiert werden. Lediglich die Membranoberfläche soll als Kontaktpunkt für die Enzymbindung genutzt werden. Dies hat zudem den großen Vorteil, dass nur eine geringfügige Änderung im bestehenden Herstellungsprozess der Membran im Vergleich zum Industriestandard vorgenommen werden muss. So ist eine simple Integration in den bestehenden Rolle-zu-Rolle-Prozess möglich. Die Enzyme sollen zur Immobilisierung mit einem Linker versehen werden, der an die Membran bindet. Der Linker nimmt die Funktion eines Abstandshalter zwischen Enzym und Membran ein, wodurch die Kontaktfläche zur Membran nochmals maßgeblich reduziert wird. Es soll zudem die minimal notwendige Anzahl an Enzymen per Linker angebunden werden. Es wird einen *trade-off* zwischen ausreichender Selbstheilungsfähigkeit und geringstmöglicher Beeinträchtigung der Funktionalität der PEMFC geben. Enzyme sind jedoch hochspezifisch und bereits in sehr geringen Mengen aktiv.

In Kapitel 2.3.2 wurden verschiedene Methoden zur Immobilisierung von Enzymen an Polymermembranen vorgestellt. Die Voraussetzung für eine kovalente Immobilisierung an der Polymermembran ist die Präsenz funktioneller Gruppen auf der Membran, die durch Funktionalisierung eingebracht werden müssen. Bei perfluorierten Membranen wie Nafion™ ist die Anwendung von Funktionalisierungsverfahren aufgrund der stabilen C-F-Bindung nicht möglich. Eine strukturelle Analyse von Nafion™ zeigt, dass neben dem C-F-Rückgrat Sulfonsäuregruppen vorhanden sind, die theoretisch als mögli-

che Ankerpunkte für die Bindung von Enzymen genutzt werden könnten. Allerdings erfüllen diese funktionellen Gruppen in Nafion™ eine wesentliche Funktion beim Protonentransport innerhalb der Membran. Eine Umwandlung dieser Gruppen zur Immobilisierung eines Linkers birgt daher das Risiko einer Beeinträchtigung der primären Funktion der PEM in der PEMFC sowie einer Störung des Protonentransportmechanismus. Daher eignen sich die Sulfonsäuregruppen von Nafion™ nicht für eine Immobilisierung. Somit sind konventionelle kovalente Immobilisierungsstrategien nicht anwendbar.

Eine weitere Möglichkeit stellt die Anwendung adhäsiver Immobilisierungsmethoden dar. Die wechselwirkende anziehende Kraft zwischen Träger und Enzym ist dabei von entscheidender Bedeutung. Die Haftung eines Linkers an der Nafion™-Membran über adhäsive Kräfte stellt eine Herausforderung dar, da Nafion™ für seine Antihaft-Eigenschaften bekannt ist. Diese Eigenschaften sind auf das fluoridierte Grundgerüst von Nafion™ zurückzuführen, das eine hydrophobe Natur aufweist und das Material wasser- und fettabweisend macht. Auf der anderen Seite liegt eine starke Affinität zu fluoridierten Phasen vor. Die anfängliche Unzugänglichkeit solcher perfluorierter Polymeroberflächen für herkömmliche kovalente Bindungsstrategien kann durch die Anwendung von fluorophilen Wechselwirkungen umgangen werden.

In Kapitel 2.3.2 wurden relevante Arbeiten zur Nutzung von fluorophilen Wechselwirkungen zur Immobilisierung von Enzymen vorgestellt. Basierend darauf, soll ein Linker designt werden, der einen Fluor-Tag trägt mit der Funktion, stabil an die Membran zu binden. Die notwendige Kettenlänge des Fluor-Tags für eine ausreichende Adhäsion liegt nach Angaben der Literatur bei C_8F_{17} . Eine Kettenlänge von C_3F_7 wurde als zu schwach beschrieben. Der Fluor-Tag kann durch die Carbodiimidmethode entweder direkt an das Enzym gebunden werden, alternativ kann ein Peptid zwischen Fluor-Tag und Enzym integriert werden. Das Peptid ermöglicht die Anpassung des Abstands des Enzyms zur Membran, was die Aktivität und Stabilität des Enzyms optimieren kann. Der modulare Aufbau des Linkers erlaubt eine gewisse Anpassungsfähigkeit. Sollte ein einzelner Fluor-Tag keine ausreichende Anziehungskraft zwischen der Membran und dem Enzym-Linker-Konstrukt erzeugen, besteht die Möglichkeit, einen zweiten oder dritten Fluor-Tag in den Linker zu integrieren. Eine schematische Darstellung des Linkeraufbaus mit und ohne Peptid ist in Abbildung 4-6 dargestellt. Der rote F-Baustein symbolisiert den Fluor-Tag. Dieser ist entweder direkt über eine Peptidbindung

Monomer für die Enzyme geeignet sein. Darüber hinaus müssen die Reaktionsbedingungen der Polymerisation so abgestimmt werden, dass das entstandene Polymer geeignete Materialeigenschaften wie Kettenlänge, Glasübergangstemperatur und Duktilität aufweist, um die Funktionsfähigkeit der Membran nicht zu beeinträchtigen. Dazu muss ein geeignetes fluoriertes Monomer ausgewählt und synthetisiert werden, um anschließend deren Umsetzung mit verschiedenen Enzymen zu testen. Die spezifischen elektronischen Eigenschaften von fluorhaltigen Monomeren machen die Polymerisation dieser nicht trivial (vgl. Kapitel 2.3.3). Insbesondere stellen die geringe Löslichkeit der Monomere und der Polymere eine Herausforderung für die Methoden der Polymerisation dar.

5. Füllstoffadhäsion

Der erfolgreiche Verschluss der Pinholes in der NafionTM Membran durch das *in-situ* synthetisierte Polymer erfordert eine attraktive Wechselwirkung zwischen dem Füllstoff und der Membran. Analog zur Anbindung der Enzyme an der Membran, die auf fluorophilen Wechselwirkungen basiert, soll auch die Adhäsion des Polymers an der NafionTM Membran funktionieren.

4.2 Gegenüberstellung des Konzeptes zu alternativen Konzepten

Im präsentierten Konzept ist das Enzym seit der Herstellung der PEMFC auf der Membran immobilisiert und erst mit dem Start eines Selbstheilungszyklus wird das Monomer von extern der PEMFC zugeführt. Das gegenwärtige Konzept beinhaltet zwei im Folgenden beschriebenen kritische Herausforderungen. Aus diesem Grund werden mögliche Alternativen des Konzeptes an dieser Stelle beleuchtet und gegenübergestellt.

Eine Herausforderung liegt im Einfluss der Betriebsbedingungen auf die Enzyme. Dies ist kritisch, denn Enzyme können besonders durch die in der PEMFC vorliegenden Temperaturen von 60-80 °C denaturiert werden und wären damit nicht mehr für die Selbstheilung verwendbar. Eine zweite Herausforderung liegt in der Realisierung einer zielgerichteten Polymerisation. Das Design auf der einen Seite der Membran die Enzyme zu immobilisieren und von der anderen Seite der Membran das Monomer zuzuführen, begrenzt räumlich die Polymerisation im Bereich des Pinholes. Jedoch muss das Monomer zunächst durch die Pinholes zu den Enzymen auf der anderen Seite der Membran gelangen, damit es zur Polymerisation kommt. Dies stellt eine Herausforderung dar. Eine Immobilisierung des Monomers in unmittelbarer Nähe des Enzyms würde die zielgerichtete Polymerisation erleichtern.

Alternative betrachtete Optionen sind:

- die Umkehrung der Reihenfolge, wobei das Monomer immobilisiert und zur Selbstheilung das Enzym zugeführt wird
- die Zuführung beider Komponenten von extern
- die Immobilisierung beider Komponenten in Membrenumgebung

Die Bewertungskriterien umfassen neben der Realisierbarkeit als Grundvoraussetzung, die ursprünglichen Anforderungen, wie die mehrfache Selbstheilung und die geringfügige Modifikation der Membran, sowie die beiden kritischen Herausforderungen des präsentierten Konzeptes. Tabelle 4-1 zeigt die Gegenüberstellung der Alternativen mit dem gewählten Konzept, mit ● erfüllt, ○ nicht erfüllt, ◐ teilweise erfüllt. Zwei dieser Optionen werden direkt als nicht realisierbar ausgeschlossen, siehe Zeile 1 und 2.

Tabelle 4-1: Gegenüberstellung des gewählten Konzepts mit alternativen Optionen zum Aufbau des Selbstheilungsmechanismus.

Option / Vorteile	Realisierbar	Mehrfache Selbstheilung	Geringfügige Modifikation der Membran	Enzyme sind nicht Betriebsbedingungen ausgesetzt	Zielgerichtete Polymerisation möglich
Monomer immobilisieren und Enzym zuführen	○	○	○	●	●
Monomer und Enzym extern zuführen	○	●	●	●	○
Monomer und Enzym immobilisieren	●	○	○	○	●
Enzym immobilisieren und Monomer zuführen (gewähltes Konzept)	●	●	●	○	◐

In ersten Überlegungen erscheint es sinnvoll, die Reihenfolge umzukehren, d.h. das Monomer zu immobilisieren und Enzyme zuzuführen, denn ein chemisches Monomer ist deutlich stabiler und langlebiger gegenüber den Betriebsbedingungen der PEMFC als ein Enzym. Die Enzyme von extern zuzuführen, impliziert, dass sie alle Lagen bis zu den innenliegenden Pinholes passieren müssten, heißt von der BPP durch die GDL und die CCM. Dies ist aufgrund der Größe der Enzyme (vgl. Kapitel 2.3.1) relativ zur Größe der Poren (Porengröße der Katalysatorschicht der CCM 4-70 nm) kaum realisierbar. Die Enzyme sind ähnlich groß wie die feinsten Poren. Zudem würden die Enzyme für jeden Selbstheilungszyklus erneut zugeführt werden und damit nur einmalig

verwendet werden. Eine einmalige Anwendung der Enzyme ist aber nicht im Sinne eines Katalysators und kostspielig. Damit ist auch die zweite Alternative, die Zuführung beider Komponenten, nicht realisierbar und ausgeschlossen.

Eine realisierbare Alternative wäre die Immobilisierung sowohl der Enzyme als auch des Monomers. Dieser Ansatz ähnelt den bekannten Methoden aus dem Stand der Forschung, bei denen Mikrokapseln mit einem Füllstoff in die Membran eingebracht werden. Durch die unmittelbare physische Nähe aller Komponenten im Bereich des Pinholes, wäre sichergestellt, dass das Monomer seinen Weg zum Enzym findet. Allerdings erfüllt dieser Ansatz nicht die in dieser Arbeit definierten Anforderungen an den Selbstheilungsmechanismus. Durch die vorherige Immobilisierung des Monomers ist dieses endlich und die mehrfache Selbstheilung nicht möglich. Auch der Mehrwert der geringfügigen Modifikation der Membran geht verloren, wenn das Monomer in Kapseln in die Membran eingebracht würde. Zusätzliche Aufwände entstehen außerdem, da sowohl das Enzym als auch das Monomer separat immobilisiert werden müssten und entsprechende Immobilisierungstechniken etabliert und in den Herstellungsprozess integriert werden müssten. Dieser alternative Ansatz weist insgesamt mehr Nachteile auf als der aktuell Gewählte.

Die betrachteten Optionen stellen damit keine Alternative dar. Die beiden kritischen Herausforderungen des Konzepts, die Exposition der Enzyme durch die Betriebsbedingungen der PEMFC und die zielgerichtete Polymerisation, müssen durch andere Methoden gelöst werden.

4.3 Experimentelle Zielstellungen

Um die Funktionsfähigkeit des enzymatischen Selbstheilungsmechanismus zu demonstrieren, sind vier wesentliche Ziele experimentell zu erreichen. Abbildung 4-1 veranschaulicht die umfassenden Ziele sowie die Teilziele der *Phasen I + II* des CD&E Vorgehensmodell. In der vorliegenden Arbeit wird aufgrund der umfassenden Zielsetzung zur Erreichung des Gesamterfolges lediglich *Phase I* betrachtet. Folgende experimentellen Ziele sind zu erreichen:

(1) Eine Grundvoraussetzung für den proof-of-concept ist die Demonstration einer ausreichenden Enzymaktivität und -stabilität bei Betriebsbedingungen der PEMFC. Für die *Phase I* beinhaltet dies folgende Untersuchungen: Für die beispielhaft ausgewählten Modell-Enzyme, CALB und CRL, soll der Einfluss der Betriebsbedingungen auf die Aktivität und Stabilität der Lipasen experimentell abgeschätzt werden. Der Einfluss der

Immobilisierung auf die Stabilität der Lipasen soll ebenfalls experimentell quantifiziert werden. Dazu sollen die Lipasen an einer Polypropylen-Membran immobilisiert und Aktivität und Stabilität immobilisierter und freier Lipasen bei Normal- und Betriebsbedingungen der PEMFC gegenübergestellt werden. Zunächst soll Polypropylen zum Einsatz kommen, da die Immobilisierung an Polypropylen eine etablierte Methode für eine stabile Immobilisierung darstellt. Auf diese Weise lässt sich der Einfluss der Betriebsbedingungen der PEMFC auf die Immobilisate abschätzen, bevor die fluorophile Immobilisierungsmethode entwickelt wurde. Die Übertragbarkeit auf NafionTM Membranen wird anschließend diskutiert. Die Untersuchungen beschränkt sich auf die ausgewählten Lipasen CALB und CRL. Ein breiteres Screening könnte weitere geeignete Enzyme ermitteln. Die Ergebnisse sind in Kapitel 5.1 beschrieben.

(2) Der erste Schritt zur Realisierung des Selbstheilungsmechanismus besteht in der langfristigen Immobilisierung der Lipasen auf der NafionTM Membran. Im Rahmen der *Phase I* ist die Entwicklung geeigneter Immobilisierungsmethoden erforderlich. Die Ergebnisse sind in Kapitel 5.2 dargelegt.

(3) Der zweite Schritt der Umsetzung des Selbstheilungsmechanismus ist die erfolgreiche Füllstoffsynthese durch die Enzyme. In der *Phase I* soll ein beispielhaftes fluoriertes Monomer synthetisiert werden, welches anschließend im Rahmen einer Polymerisation mithilfe der ausgewählten Lipasen untersucht wird. Die Ergebnisse sind in Kapitel 5.3 dargelegt.

(4) Der letzte Schritt zum Nachweis der Funktionsfähigkeit des Selbstheilungsmechanismus besteht in der Zusammenführung aller drei vorherigen Schritte und der Demonstration des Selbstheilungseffekts durch den Verschluss eines Pinholes. In der *Phase I* soll zunächst die Etablierung einer Methode zur Analyse des Selbstheilungseffekts erfolgen. Die Ergebnisse sind in Kapitel 5.4 dargelegt.

5 Experimentelle Ergebnisse der Phase I und Diskussion

Auf Grundlage des Konzepts und den daraus abgeleiteten experimentellen Zielstellungen werden im Folgenden die Ergebnisse der *Phase I* des CD&E Vorgehensmodells vorgestellt. Das Kapitel gliedert sich in vier Unterkapitel (siehe Abbildung 5-1). Die experimentellen Ergebnisse sind im Rahmen des Projektes *BioHealing* entstanden, das vom InnovationsCampus Mobilität der Zukunft (ICM) von September 2021 bis September 2022 gefördert wurde. Die Ergebnisse sind in drei Veröffentlichungen, sowie in studentischen Abschlussarbeiten beschrieben, die von der Autorin der Arbeit angeleitet wurden. Verwendete Materialien, sowie die experimentellen und analytischen Methoden sind den Anhängen A, B und C zu entnehmen.

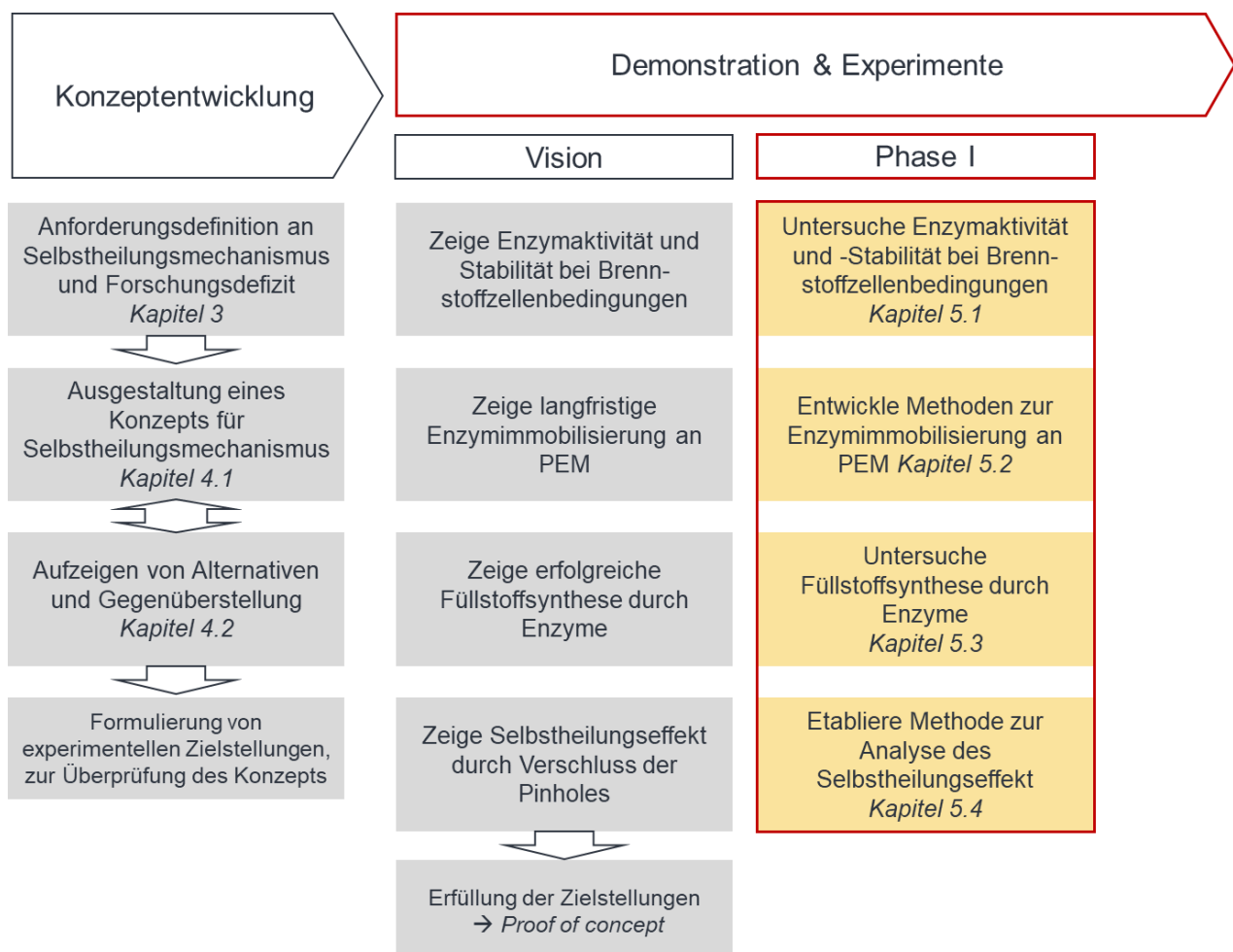


Abbildung 5-1: Auszug aus dem CD&E Vorgehensmodell zur Entwicklung eines Selbstheilungsmechanismus für PEM mit Fokus auf Phase I.

5.1 Untersuchung der Enzymaktivität und -stabilität bei Betriebsbedingungen der PEMFC

Eine Grundvoraussetzung für die Realisierung des enzymatischen Selbstheilungsmechanismus in einer anspruchsvollen Anwendung wie der PEMFC ist es, die Aktivität und Stabilität der Lipasen unter den Herstellungs- und Betriebsbedingungen der PEMFC nachzuweisen.

In Abschnitt 5.1.1 wurde dazu ein Modellsystem entwickelt, das sowohl eine Methode zur Immobilisierung der Lipasen an Polymermembranen als auch die Enzymanalytik etabliert. Die grundlegende technische Eignung der immobilisierten Lipasen wurde durch die Analyse ihrer Stabilität und Aktivität unter den Herstellungs- und Betriebsbedingungen einer PEMFC in Abschnitt 5.1.2 untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in (Gartner et al. 2023b) veröffentlicht. Sie sind das Ergebnis der von der Verfasserin dieser Arbeit betreuten Abschlussarbeiten (A_Bilger 2022) und (A_Grünert 2022).

5.1.1 Etablierung Methodik und Analytik

Im Rahmen der Entwicklung der Methodik und Enzymanalytik erfolgte zunächst ein Einsatz von Polypropylen (PP)-Membranen anstelle von Nafion™ Membranen als Modellschubstanz. Der Vorteil dieser Vorgehensweise besteht darin, dass die Immobilisierung von Enzymen an PP bereits etabliert ist (Hermanson 2013). Somit ist es nicht erforderlich, zunächst eine fluorophile Immobilisierungsmethode zu entwickeln. Des Weiteren ist PP im Gegensatz zu Nafion™ kostengünstig. Zuletzt ist PP aufgrund seiner einfachen Handhabung besonders für die Umsetzung solcher Immobilisierungsmethoden im Labor geeignet. Die Handhabung von Nafion™ erwies sich aufgrund des Quellverhaltens bei Kontakt mit wässrigen Medien als schwierig. Daher wurde zunächst eine kovalente Immobilisierung der ausgewählten Lipasen CRL und CALB auf einer Polypropylenmembran mittels der Carbodiimid-Methode analysiert. Die Übertragbarkeit der Immobilisierungsmethode auf Nafion™-Membranen wurde im weiteren Verlauf der Arbeit evaluiert (vgl. Kapitel 5.2).

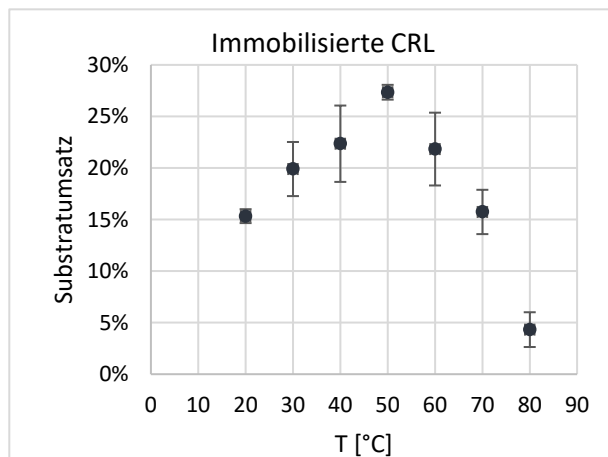
Die beiden ausgewählten Lipasen CRL und CALB wurden nach dem Schema von (Hermanson 2013) an PP immobilisiert (vgl. Anhang B.2). Um die Enzymaktivität zu messen, wurde ein *p*-NPA-Assay durchgeführt, (vgl. Anhang B.1). Die folgenden Ergebnisse stellen die Charakterisierung der Immobilisate dar.

Verlauf des Substratumsatzes der Immobilisate bei verschiedenen Temperaturen

Die Aktivität der Enzymimmobilisate CRL und CALB wurde über einen Temperaturbereich von 20 – 80 °C verglichen. Dazu wurde der *p*-NPA-Assay genutzt. Die Immobilisate wurden für 20 min der jeweiligen Temperatur ausgesetzt.

Beide Immobilisate erreichten ihre maximale Aktivität bei 50 °C. Die immobilisierte CRL zeigte im gesamten Bereich eine 2- bis 3-fach höhere Aktivität als die immobilisierte CALB, bedingt durch Unterschiede in den Ausgangspräparaten (Proteingehalt des CRL-Präparat: 18,4 %, CALB-Präparat: 7,5 %), siehe Abbildung 5-2. Insbesondere bei einer Temperatur von ca. 23 °C war die Substratumsetzung der immobilisierten CRL deutlich höher (15,3 % gegenüber 3,3 % bei CALB). Da der Assay standardmäßig bei 23 °C durchgeführt wird, ist CRL für den Assay und für folgende Untersuchungen bevorzugt. Weitere Untersuchungen fokussieren sich damit auf die CRL.

A)



B)

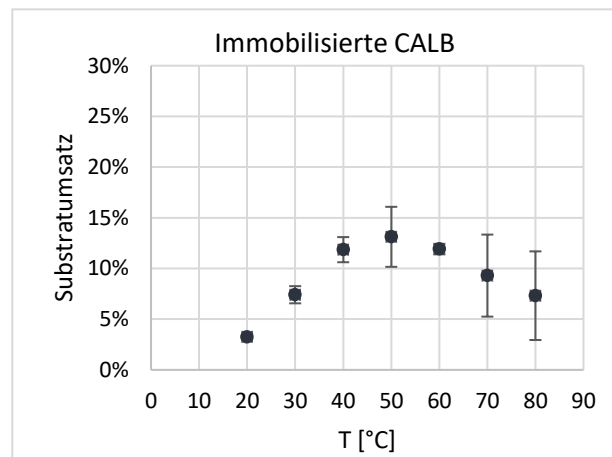
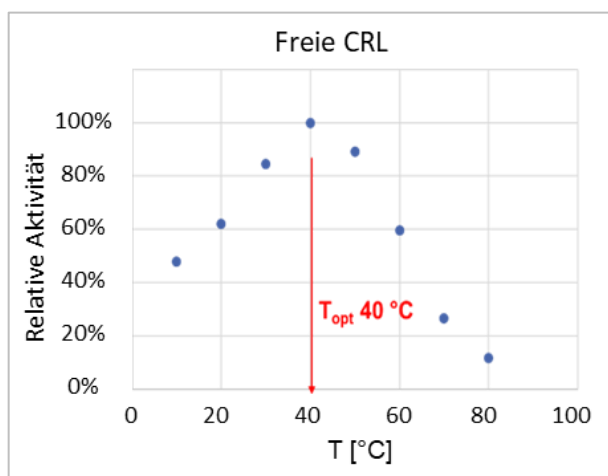


Abbildung 5-2: *p*-NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL (A) und der CALB (B) auf Polypropylen bei verschiedenen Temperaturen (Gartner et al. 2023b).

Des Weiteren wurde eruiert, ob die Immobilisierung der CRL eine Veränderung des Temperaturoptimums des Enzyms T_{opt} zur Folge hat. Zur optimalen Darstellung wurde die relative Aktivität der freien und immobilisierten CRL in Abbildung 5-2 gegenüberge-

stellt, normiert auf die jeweils höchste Aktivität. Der Vergleich zeigt, dass das Temperaturoptimum um ca. 10 °C gesteigert werden konnte. Das Resultat ist für den Einsatz in der PEMFC vorteilhaft, da es demonstriert, dass die Immobilisierung der Enzyme zu einer höheren katalytischen Aktivität bei einer höheren Reaktionstemperatur führt. Dieses Resultat entspricht den in der Literatur bekannten Daten, wonach die freie CRL ihr Temperaturoptimum ebenfalls zwischen 35 und 40 °C aufweist und durch eine Immobilisierung das Temperaturoptimum um 10 bis 17 °C gesteigert werden kann. (vgl. Kapitel 2.3.2).

A)



B)

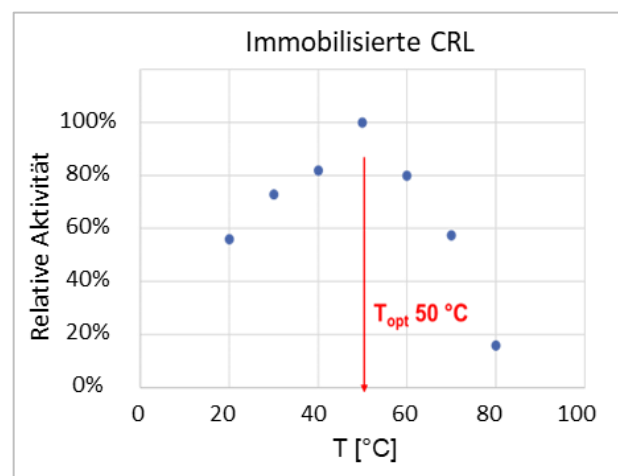


Abbildung 5-3: Relative Aktivität der freien (A) und immobilisierten CRL (B) auf Polypropylen (Gartner et al. 2023b).

Für alle folgenden Experimente der Arbeit wurde der *p*-NPA-Assay bei 23 °C für 20 min durchgeführt.

Einfluss des Carbodiimids und der Prozessschritte auf die Immobilisierung

Um die Enzymimmobilisierung zu optimieren, wurden neben dem Carbodiimid Diisopropylcarbodiimid (DIC) zwei weitere Carbodiimide: 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid (EDC) und Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) untersucht (vgl. Abbildung 5-4 links). Die Immobilisate wurden, wie im Anhang B.3 beschrieben, hergestellt. Des Weiteren wurden die Prozessschritte bei der Herstellung der Immobilisate mit dem Carbodiimid DIC variiert (vgl. Abbildung 5-4 rechts): A: Voraktivierung durch DIC mit anschließendem Waschen; B: Voraktivierung durch DIC ohne anschließendes Waschen;

C: Gleichzeitige Zugabe von DIC und Enzym, siehe Abbildung 5-4. Die Kontrollprobe beinhaltet ausschließlich das Enzym ohne Carbodiimid (Ads = Adsorptive Bindung des Enzyms an der Membran).

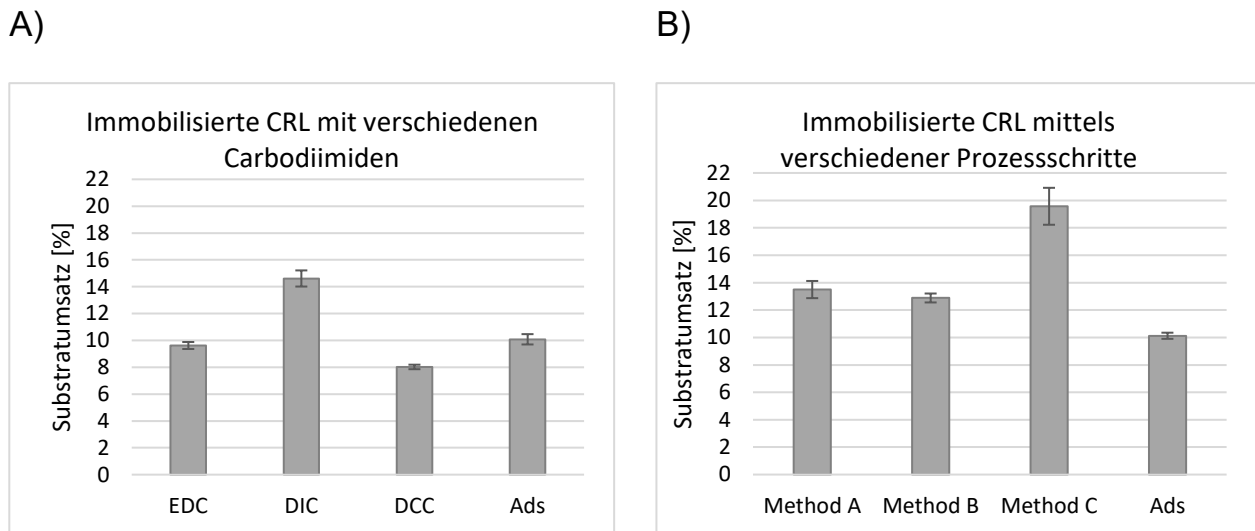


Abbildung 5-4: *p*-NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL und der CALB auf Polypropylen hergestellt mit verschiedenen Carbodiimiden (A) und hergestellt mit verschiedenen Prozessschritten (B) (Gartner et al. 2023b).

Die Wahl des Quervernetzers und die Prozessschritte beeinflussten die Immobilisierung stark. DIC erwies sich als vielversprechend mit einem Umsatz von 14,6 %. DCC zeigte in der Probenvorbereitung eine begrenzte Löslichkeit in der Enzymlösungen. Dadurch enthielt die Probe weniger Quervernetzermoleküle, was in einer geringen Immobilisierung und entsprechend in einem geringeren Umsatz resultierte. Überraschend zeigte EDC trotz guter Löslichkeit keine wesentlichen Verbesserungen. DIC, obwohl von (Hermanson 2013) als unlöslich beschrieben, erwies sich als auffallend löslich. Diese Abweichung könnte darauf hindeuten, dass sich die Membranoberfläche während der Funktionalisierung veränderte und dadurch mit den Quervernetzern verschiedenartig reagiert. Es könnte eine unvollständige Oxidation der hydrophoben Methylgruppen zu hydrophilen Carboxylgruppen erfolgt sein.

Hinsichtlich der Prozessreihenfolge wurde das beste Ergebnis mit Methode C erzielt (19,6 %). Mehrere Waschschrte nach der DIC-Zugabe beeinflussten die Immobilisierung nicht, was auf eine unverminderte adsorptive Immobilisierung hindeutet. Die simultane Zugabe von Enzym und DIC (Methode C) war effektiver als eine Voraktivierung durch DIC (Methoden A und B). Dieser Unterschied könnte darauf zurückzuführen sein,

dass DIC die Carboxylgruppen sowohl auf der Membran- als auch auf der Enzymoberfläche aktiviert, was möglicherweise eine Vernetzung der Enzyme ermöglicht und die Gesamtzahl der immobilisierten Enzyme erhöht. Ein Vorteil der Vernetzung wäre, dass mehr Enzyme an den zukünftigen Polymerisationsreaktionen teilnehmen können, die Aktivität könnte aber auch gleichzeitig durch sterische Hinderung reduziert werden.

Im Folgenden wurde daher für die Immobilisierung DIC und Methode C: Gleichzeitige Zugabe des Carbodiimids und Enzym, verwendet.

Wiederverwendbarkeit und Lagerstabilität der Immobilisate

Die Wiederverwendbarkeit der immobilisierten Enzyme wurde nachgewiesen (siehe Abbildung 5-5 A). Es wurde ein anfänglicher Aktivitätsverlust von 14 % zwischen dem ersten und zweiten Zyklus gemessen. Nach acht Zyklen wiesen die Immobilisate eine Restaktivität von über 54 % auf, was auf das Potenzial für mehrere enzymatische Selbstheilungszyklen hinweist. Mögliche Gründe für den Aktivitätsverlust könnten ein Abwaschen der Enzyme von der Membran oder eine Denaturierung sein. Um das Waschen während der acht Zyklen zu simulieren, wurde eine Negativkontrolle durchgeführt, bei der die Immobilisate zwischen den Reaktionsgefäßen transferiert wurden. Es wurde kein Aktivitätsverlust festgestellt. Dies deutet darauf hin, dass die Denaturierung der immobilisierten Enzyme die Hauptursache war.

Des Weiteren wurde die Lagerstabilität untersucht. Die Enzymimmobilisate zeigten nach 28 Tagen Lagerung eine Restaktivität von 71,6 %, wie in Abbildung 5-5 B dargestellt ist. Die Abnahme könnte ebenfalls auf die Denaturierung oder das Abwaschen der Enzyme zurückzuführen sein. Um den Rückgang der Enzymaktivität zu klären, wurden die verbleibende Lösung, in der die Immobilisate vorlagen, analysiert. Aktive Enzyme wurde in der Lösung detektiert. Dies lässt darauf schließen, dass das Enzym möglicherweise trotz vorheriger Reinigung von der Membran abgelöst wurde. Die Möglichkeit der Denaturierung besteht zudem.

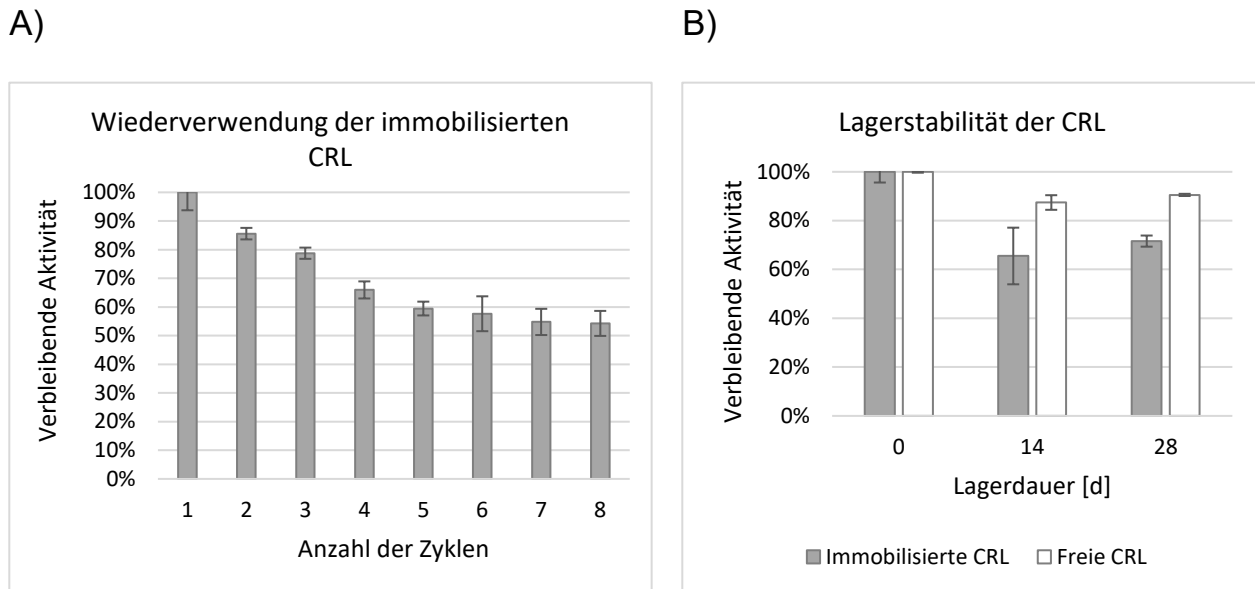


Abbildung 5-5: Verbleibende Aktivität der Immobilisate von CRL auf Polypropylen über die Anzahl an Aktivitätszyklen (A) und nach 28 Tagen Lagerung (B) (Gartner et al. 2023b).

Im Gegensatz dazu nahm die Enzymaktivität der freien CRL über einen Zeitraum von 28 Tagen nur um 9,5 % ab. Die Aktivität sowohl der immobilisierten als auch der freien Lipase zeigte den stärksten Rückgang in den ersten 14 Tagen, blieb jedoch danach stabil. Insgesamt deuten diese Beobachtungen auf eine generelle Lagerstabilität der Immobilisate für mindestens 28 Tage hin. Um eine Aussage treffen zu können, ob die Lagerstabilität für die Lebensdauieranforderungen der PEMFC ausreicht, müssen einerseits über einen deutlich längeren Zeitraum Untersuchungen gemacht werden, und auf der anderen Seite müssen Untersuchungen der Lagerstabilität der Lipasen bei Betriebsbedingungen der PEMFC gemacht werden. Im Folgenden Kapitel sollen zunächst der Einfluss der einzelnen Betriebsbedingungen der PEMFC auf die Enzymaktivität und -stabilität eruiert werden.

5.1.2 Einflüsse der PEMFC auf die Enzymaktivität und -Stabilität

Die freie und die immobilisierte CRL wurden weiter auf ihre Stabilität im Hinblick auf die Herstellungs- und Betriebsbedingungen einer PEMFC (Einfluss von Temperatur, pH-Wert, Gasatmosphären, Lösungsmittelleffekte) untersucht.

Temperaturstabilität

Die Enzyme sollen in der PEMFC Temperaturen bis zu 60 bzw. 80 °C ausgesetzt werden. Daher wurde die Temperaturbeständigkeit der CRL bewertet. Dazu wurden immobilisierte CRL-Proben für 3 Tage sowohl bei 60 °C als auch bei 4 °C gelagert, wobei ein konstanter pH-Wert von 7,2 beibehalten wurde. Die Aktivität zu Beginn ($t = 0$) und nach 3 Tagen ($t = 3 \text{ d}$) wurde quantifiziert und der Aktivitätsverlust in Abbildung 5-6 A dargestellt.

Die immobilisierte Probe, die bei 4 °C gelagert wurde, zeigte einen Aktivitätsabfall von 10,8 %, der dem zyklusbedingten Verlust von 14,1 % entsprach (Abbildung 5-5). Dies deutet auf einen minimalen Aktivitätsverlust während der Lagerung bei 4 °C und pH 7,2 hin. Im Gegensatz dazu wies das Immobilisat, das 3 Tage lang bei 60 °C gelagert wurde, einen Aktivitätsverlust von 80,1 % auf, wobei 14,1 % wieder dem zyklusbedingten Verlust zuzuordnen sind. Im Vergleich dazu wies eine freie CRL-Probe nach 3 Tagen bei 60 °C einen Aktivitätsverlust von 95,8 % auf. Dies entspricht exakt den Literaturangaben (vgl. Kapitel 2.3.2), wonach die freie CRL ihre katalytische Aktivität bei 60 °C gänzlich verliert. Der Aktivitätsverlust bei der freien als auch bei der immobilisierten CRL ist daher sehr wahrscheinlich auf die temperaturbedingte Denaturierung des Enzyms zurückzuführen. Eine langfristige Temperaturbeständigkeit ($> 3 \text{ d}$) der CRL ist nicht gegeben. Die CRL demonstriert zwar die positive Wirkung der Immobilisierung, ist jedoch nicht für die Selbstheilung in der PEMFC einsetzbar. In Folgearbeiten müssen daher temperaturstabile Enzyme für Temperaturen über 60 °C identifiziert werden. Des Weiteren stehen verschiedene Methoden zur Optimierung der Temperaturbeständigkeit zur Verfügung, deren Diskussion im Fazit (Kapitel 5.1.3) erfolgt.

Stabilität unter sauren Bedingungen

Des Weiteren ist das Enzym an der Membran einem pH-Wert von 3 ausgesetzt, daher wurden die Auswirkungen dieser sauren Umgebung auf die Aktivität der freien und immobilisierten Lipase untersucht (siehe Abbildung 5-6 B). Die Immobilisate und freien Enzyme wurden je 3 Tage bei pH 3 gelagert. Für die Durchführung des Aktivitätsassay ist es erforderlich die Proben wieder auf pH 7,2 zu regulieren. Die Immobilisate konnten dazu in ein neues Gefäß mit pH 7,2 überführt werden, die freien Enzyme mussten per Dialyse umgepuffert werden, was zu einem methodisch bedingten Aktivitätsverlust von 14,9 % führt (Berechnung siehe Anhang B.4).

Die bei pH 3 gelagerten Immobilisate zeigten keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zu den bei pH 7,2 aufbewahrten Immobilisaten (Vgl. Abbildung 5-6 A und B). Sie sind also stabil gegenüber sauren Bedingungen.

Der ermittelte methodische Aktivitätsverlust der freien CRL durch die Dialyse betrug 14,9 %. Die Ursache hierfür ist die anteilige Festsetzung des Enzyms in der Dialyseeinheit. Nach einer dreitägigen Lagerung der Enzymlösung bei pH 3 und dem Umpuffern auf pH 7,2 ergab sich ein Substratumsatz von 36,2 %. Unter Berücksichtigung des Dialyseverlusts von 14,9 % betrug der Nettoaktivitätsrückgang durch die Behandlung bei pH 3 für die freie CRL 25,0 %.

Der Vergleich zwischen freiem und immobilisiertem CRL zeigt, dass die Immobilisierung eine verbesserte pH-Stabilität ermöglicht.

Ein saurer pH-Wert hat keinen merklichen Einfluss auf die Aktivität des Immobilisats der CRL. Dieses Ergebnis sollte auch für einen längeren Zeitraum gelten, muss jedoch überprüft werden, um der Anforderung gerecht zu werden.

Stabilität gegenüber alkoholhaltigen Lösungen

Die Stabilität der Enzymimmobilisate wurde außerdem gegenüber der Exposition in alkoholhaltigen Medien überprüft. Wie in Kapitel 2.1.2 beschrieben, werden besonders propanolhaltige Lösungsmittel in der platinhaltigen Katalysatortinte verwendet. Deswegen wurde in dieser Arbeit ein Gemisch aus einer 5 % Ethanol Lösung und einer 60 % 1-Propanol Lösung untersucht. Außerdem wurden die Lösungsgemischbestandteile einzeln untersucht, um einzelne Einflüsse zu detektieren. Die Exposition dauerte 5 min.

Die immobilisierten Proben zeigen im Vergleich zu den freien Enzymen eine Robustheit, wie in Abbildung 5-6 C dargestellt. Die Kontrollprobe (CRL in Puffer) wies den erwarteten zyklusbedingten Aktivitätsverlust von 14,4 % auf. Die Immobilisate, die mit 5 % Ethanol behandelt wurden, zeigten einen Aktivitätsverlust von 21,1 %. Nach Abzug des zyklusbedingten Verlusts von 14,1 % ergab sich ein Nettoaktivitätsrückgang von 7 % aufgrund des Alkohols. Die mit 60 % 1-Propanol behandelten Immobilisate zeigten einen Verlust von 37 %. Die höher konzentrierte 1-Propanol-Lösung hat die Aktivität der immobilisierten Probe im Vergleich zu Ethanol deutlich verringert. Der Aktivitätsverlust in den Immobilisaten, die mit 5 % Ethanol und 60 % 1-Propanol behandelt wurden, ist hauptsächlich auf die durch 1-Propanol verursachte Denaturierung zurückzuführen. Die freie CRL-Lösung wies deutlich höhere Aktivitätsverluste auf, insbesondere 91,2 %

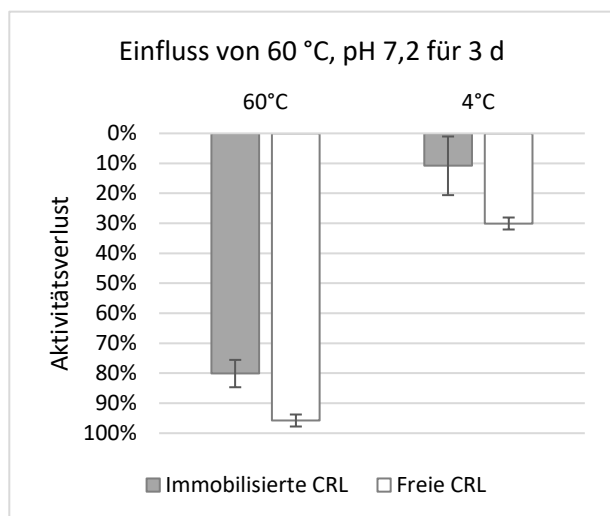
für 1-Propanol. Diese Diskrepanz ist größtenteils darauf zurückzuführen, dass die Proben in der freien Lösung länger dem Alkohol ausgesetzt sind, da das Beenden der Behandlung durch die Anforderungen der Dialyse erschwert wird, siehe Erläuterung der Methode (Anhang Kapitel B.4).

Zusammenfassend erhöhte die Immobilisierung die Robustheit der Enzyme ggü. der alkoholhaltigen Lösungen deutlich. Dennoch ist der Aktivitätsverlust von 37 % durch die Exposition mit propanolhaltigen Lösungsmittel signifikant. Weitere Lösungsmittel und Konzentrationen müssen getestet werden.

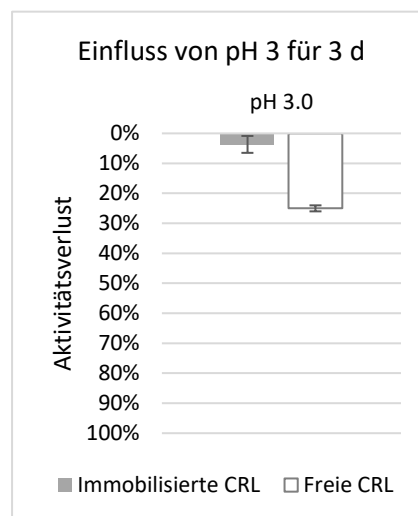
Stabilität gegenüber Gasatmosphären

Die Aktivität der Immobilisate wurde durch die Lagerung in verschiedenen Gasatmosphären über 3 Tage nicht signifikant beeinträchtigt. Abbildung 5-6 D zeigt die relative Aktivität der Immobilisate vor und nach der Exposition mit Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Luft. Unter Einbezug der Fehlerbalken sind keine signifikanten Abweichungen zwischen Ausgangs- und Endzustand ersichtlich. Ähnlich verzeichnete auch die freie CRL keinen Aktivitätsverlust durch die Einwirkung unterschiedlicher Gasatmosphären (nicht dargestellt). Somit konnte nachgewiesen werden, dass Wasserstoff- und Sauerstoffatmosphären in einer PEMFC keinen kritischen Faktor für die Stabilität der Immobilisate darstellen.

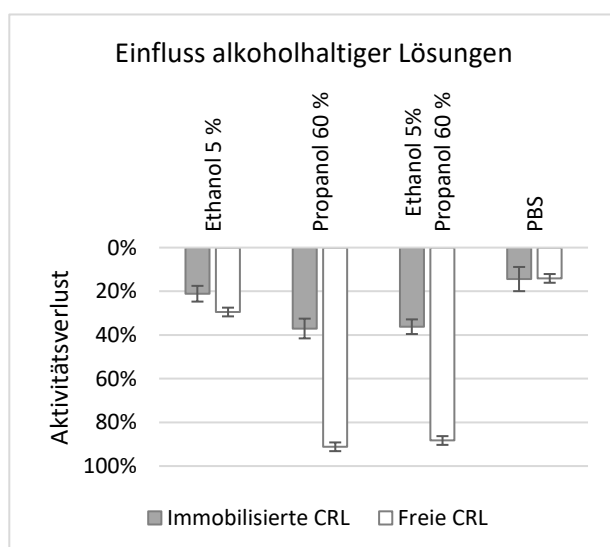
A)



B)



C)



D)

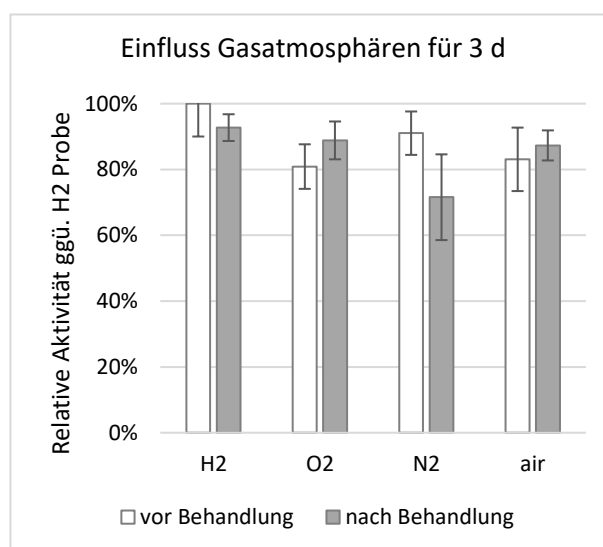


Abbildung 5-6: Charakterisierung der immobilisierten CRL auf Polypropylen unter Einfluss relevanter Herstellungs- und Betriebsparameter der PEMFC (Gartner et al. 2023b).

5.1.3 Fazit

Es wurde eine Methodik und Analytik etabliert, um die grundlegende Aktivität und Beständigkeit von Enzymen, die an einer Polypropylenmembran immobilisiert sind, unter Betriebsbedingungen der PEMFC zu demonstrieren. Die Ergebnisse deuten insgesamt auf vielversprechende Möglichkeiten für den Einsatz immobilisierter Enzyme in PEMFCs hin. Dennoch sind zusätzliche Untersuchungen und Optimierungen notwendig, um die Stabilität in verschiedenen Szenarien weiter zu verbessern und eine Übertragbarkeit von Polypropylen auf Nafion™ Membranen zu erreichen.

Folgende Schlussfolgerungen ergeben sich im Detail aus den Untersuchungen:

- **Zwei Modell-Lipasen *Candida rugosa* Lipase (CRL) und *Candida antarctica* Lipase B (CALB)** wurden in Folge der definierten Anforderungen ausgewählt. Diese sind: potentiell stabil gegenüber den Betriebsbedingungen der PEMFC (Exposition bei T= 60 – 80 °C, pH 3, Wasserstoff- und Sauerstoffatmosphären, Ethanol- und Propanol-haltige Lösungsmittel), immobilisierbar an Membran, füllstoffsynthetisierend.
- **Die Enzymanalytik via *p*-NPA Aktivitätsassay** erwies sich als effektiv zur qualitativen Analyse der Enzyme in freier und immobilisierter Form, wobei CRL eine 2 - 3- fach höhere Aktivität als CALB zeigte, weshalb diese im Folgenden fokussiert wurde.
- Die kovalente Immobilisierung der Enzyme an die Polypropylenmembran via Carbodiimid führte zur **Erhöhung des Temperaturoptimums um 10 °C**
- Die Immobilisierung ermöglichte eine min. **achtmalige Wiederverwendbarkeit** der Immobilisate (54,3 % Aktivitätserhalt nach acht Zyklen).
- **Die Lagerstabilität der Immobilisate über 28 Tage** wurde demonstriert. Die Restaktivität lag bei 72 %.
- **Die Enzymimmobilisierung führte zu einer Verringerung des Aktivitätsverlustes** der CRL unter Exposition bei 60 °C (80 % vs. 96 %), bei pH 3 (4 % vs. 25%) und unter dem Einfluss alkoholhaltiger Lösungsmittel (36 % vs. 88 %)
- **Kritisch identifizierte Faktoren**, die die Enzymaktivität maßgeblich reduzieren trotz Immobilisierung des Enzyms sind: eine Temperatur von 60 °C für 3 d (Aktivitätsverlust um 80 %), sowie alkoholhaltige Lösungsmittel (Aktivitätsverlust um 36 %)

- **Als nicht kritische Faktoren** haben sich ein pH-Wert von 3, sowie der Einfluss verschiedener Gasatmosphären für die Aktivität der CRL erwiesen.

Zukünftige Perspektiven:

- Besonders die **Temperaturstabilität** muss verbessert werden. Dafür könnten sich künftige Studien auf die Verwendung extremophiler Enzyme oder die Anwendung von Protein Engineering konzentrieren. Eine weitere Option ist die Verwendung von Pepzymen. Pepzyme sind katalytisch aktive Teile von Enzymen, die robuster sind als ganze Enzyme. Eine weitere Option wäre die Enzyme mit einer Schutzschicht oder Trägerstruktur zu versehen, die sie vor den Bedingungen schützt, mit dem Nachteil der reduzierten Aktivität der Enzyme (Shahgaldian et al. 2019).
- Ebenso ist die Untersuchung der **wechselseitigen Auswirkungen verschiedener Stressoren** wie Temperatur, pH-Wert und Lösungsmittel von Bedeutung, da Enzyme verschieden unter zeitgleichem Einwirken dieser Faktoren reagieren können.
- Die **Übertragbarkeit der Ergebnisse für das Trägermaterial Nafion™** muss untersucht werden.

5.2 Untersuchung zweier Methoden zur Enzymimmobilisierung an Nafion™

Das Ziel der folgenden experimentellen Untersuchungen besteht darin, den ersten Schritt zur Umsetzung des Selbstheilungsmechanismus zu demonstrieren, indem die ausgewählten Enzyme aus Kapitel 5.1 an die Nafion™ Membran immobilisiert werden. Zunächst wird die Übertragbarkeit der in Kapitel 5.1 verwendeten Immobilisierungsmethode an Nafion™ diskutiert. Anschließend werden die Ergebnisse der Immobilisierung per Fluorophilie (Kapitel 5.2.2), sowie der Immobilisierung per selektivem Peptidlinker (Kapitel 5.2.3) vorgestellt. Die Ergebnisse sind in den Veröffentlichungen (Gartner et al. 2023a) und (Schmidt et al. 2023) festgehalten.

5.2.1 Übertragbarkeit der Immobilisierungsmethode von PP an Nafion™

Zur Untersuchung der Aktivität und Stabilität der Lipasen unter Betriebsbedingungen der PEMFC wurde zunächst eine Polypropylen (PP)-Membran anstelle einer Nafion™-Membran als Trägermaterial verwendet. Bei der Immobilisierung der Enzyme auf PP wurde eine kovalente Bindung zwischen Enzym und PP durch das Kopplungsreagenz Carbodiimid (DIC) induziert. Eine kovalente Bindung der Enzyme an Nafion™ ist aus anwendungstechnischen Gründen nicht erwünscht (vgl. Kapitel 4.1). Eine direkte Übertragung des für Polypropylen entwickelten Modells auf Nafion™ ist daher nur für die Bindung von Linker und Enzym realisierbar. Linker und Enzym werden über die kovalente Carbodiimidmethode miteinander verbunden. Für die Bindung des Linkers an die Nafion™ Membran müssen andere Immobilisierungsmethoden verwendet werden, die auf adhäsiven Kräften beruhen. Hierzu wurden zwei Methoden entwickelt, deren experimentelle Umsetzung im Folgenden dargestellt wird.

5.2.2 Immobilisierung über fluorophile Wechselwirkungen

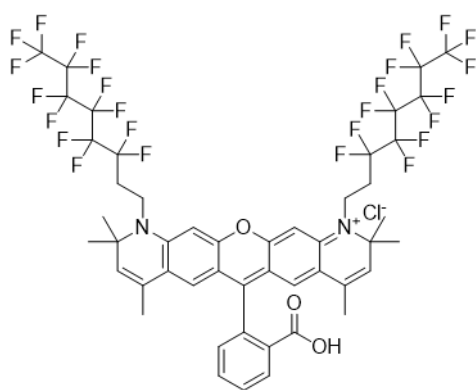
Zur Realisierung der Immobilisierungsmethode per Fluorophilie wurden verschiedene Fluor-Tags mit und ohne Linker auf ihre Eignung zur Immobilisierung von Lipasen an Nafion™ experimentell analysiert.

Immobilisierung von Lipasen mit F-Rhodamin-Linker

Zur schnellen Demonstration des Prinzips der fluorophilen Wechselwirkung wurde in Anlehnung an (Jbeily et al. 2017) (vgl. Kapitel 2.3.2) ein F-Rhodamin verwendet und

auf einer Nafion™ Membran immobilisiert. Das F-Rhodamin stammt aus früheren Studien (Kölmel et al. 2013). Im Unterschied zu Jbeily et al. hat das hier verwendete F-Rhodamin zwei Fluor-Tags mit einer Länge von C_6F_{13} (siehe Abbildung 5-7 A). Die Membran wurde für 5 Sekunden in die methanolische F-Rhodaminlösung getaucht. Die erfolgreiche Adsorption/Adhäsion wurde direkt durch die rote Farbe des Rhodamins sichtbar. Dies wurde durch Fluoreszenzmikroskopie überprüft (siehe Abbildung 5-7 B). Die starke Affinität des F-Rhodamins zur Membran widerstand der Ablösung durch verschiedene Lösungsmittel, einschließlich perfluorierter Lösungsmittel. Es wurde gezeigt, dass das F-Rhodamin über einen Zeitraum von 24 Stunden stabil gegenüber reinen Lösungsmitteln wie Dichlormethan (DCM), Acetonitril, Perfluorhexan und DMF ist.

A)



F-Rhodamin

B)

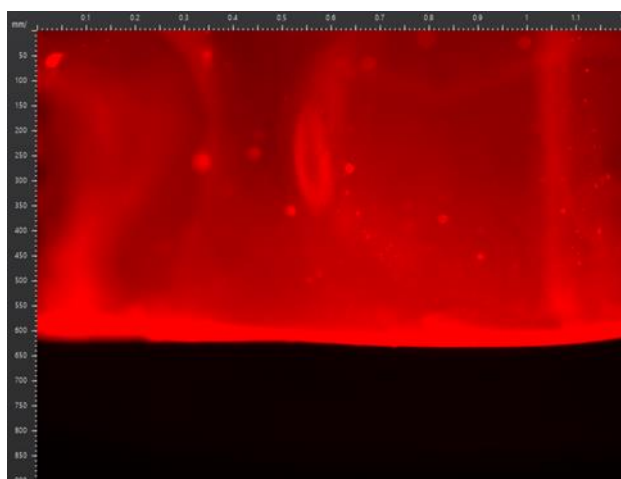


Abbildung 5-7: Adhäsion des F-Rhodamins (A) an der Nafion™ Membran in einem Fluoreszenzmikroskop (B) (Gartner et al. 2023a).

Im nächsten Schritt wurde das Enzym mithilfe des F-Rhodamin-Linkers an die Membran gebunden. Die freie Carboxylgruppe des F-Rhodamins wurde mit Carbodiimid aktiviert, um das Enzym kovalent zu binden. Die Aktivität des immobilisierten Enzyms wurde anhand eines *p*-NPA-Assays überprüft (siehe Abbildung 5-8). Dabei wurde der Substratumsatz von *p*-NP für ein adsorptiv gebundenes Enzym (ohne Carbodiimid) im Vergleich zu einem kovalent gebundenen Enzym dargestellt. Der Erfolg der Immobilisierung zeigt sich im Vergleich des Umsatzes von 24 % zu 2 %. Die rechte Seite der Abbildung zeigt die immobilisierte CRL auf der Nafion Membran, mit dem rot leuchtenden F-Rhodamin-Linker.

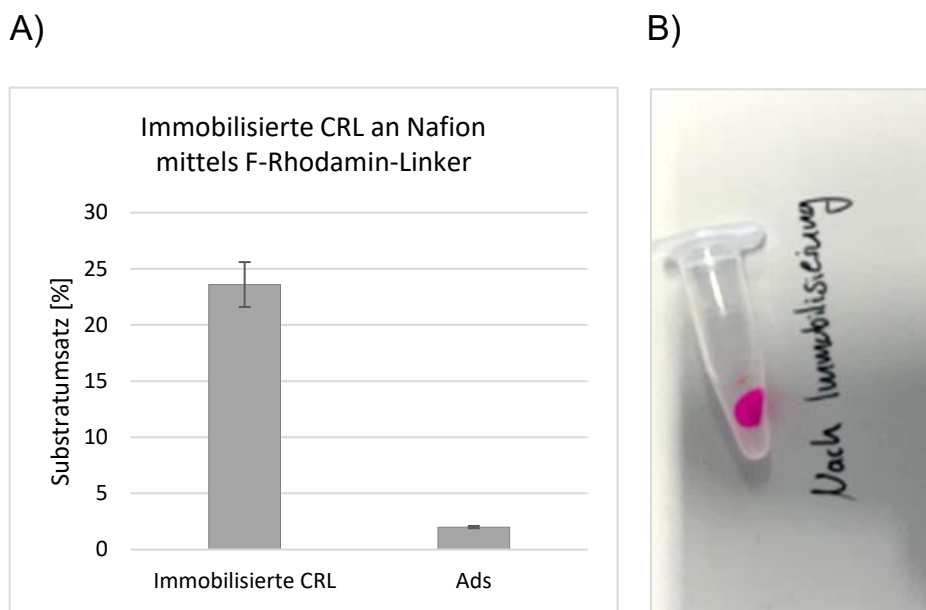


Abbildung 5-8: *p*-NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL an Nafion™ mittels F-Rhodamin-Linker. Ads: adsorptiv gebundene CRL (A). Foto der immobilisierten CRL an Nafion™ mittels F-Rhodamin-Linker (B).

Immobilisierung von Lipasen mit kurzkettigen Fluor-Tags

In folgenden Experimenten wurden verschiedene Einflussfaktoren auf den Erfolg der Immobilisierung untersucht, darunter die Länge des Fluor-Tags, das Lösungsmittel sowie die Optimierung der Handhabung der Nafion™ Membranen. Die Untersuchungen sind das Ergebnis der von der Autorin der Arbeit angeleiteten Abschlussarbeiten (A_Adami 2023) und (A_Schwarzer 2023). Als Fluor-Tags wurden verfügbare kurzkettige fluorierte organische Säuren verwendet, siehe Abbildung 5-9.



Abbildung 5-9: Strukturformeln der kurzkettigen Fluor-Tags: Perfluorpropansäure (A) und Perfluorpentansäure (B).

Einfluss der Länge des Fluor-Tags

Der Einfluss der Länge des Fluor-Tags auf den Immobilisierungserfolg wurde untersucht. Dazu wurden Perfluorpropansäure, Perfluorpentansäure und der F-Rhodamin-Linker gegenübergestellt, siehe Tabelle 5-1. Zunächst wurden Nafion™ Membranen

mit den Fluor-Tags funktionalisiert, anschließend wurde die CRL per Carbodiimidmethode angebunden. Per *p*-NPA Assay wurde der Substratumsatz festgestellt.

Tabelle 5-1: Zusammenhang Fluor-Tag Länge, Substratumsatz und Haftung verschiedener Immobilisate der CRL an Nafion™.

Name	Perfluorpropansäure	Perfluorpentansäure	F-Rhodamin-Linker
Fluor-Tag Länge	C ₂ F ₅	C ₄ F ₉	2x C ₆ F ₁₃
Substratumsatz nach 20 min	5 %	13 %	24 %
Haftung	zu gering, Enzyme lösen sich zu 35 % nach Waschen mit Reinstwasser von Membran ab	N/A	stark, Linker hält reinen fluorierten Lösungsmitteln über 24 h stand

Der *p*-NPA Assay ergab nach 20 Minuten Inkubationszeit einen Substratumsatz von 5 % für die Immobilisierung mit der Perfluorpropansäure, 13 % für die Perfluorpentansäure und 24 % für die Immobilisierung mittels F-Rhodamin-Linker, der zwei Fluortags der Länge C₆F₁₃ trägt. Abbildung 5-10 A) zeigt die Substratumsätze für die beiden kurzen Fluor-Tags. Es besteht eine Korrelation zwischen Substratumsatz und Länge des Fluor-Tags. Diese Korrelation ist auf die stärkere fluorophile Wechselwirkung bei längeren C-F Ketten zurückzuführen und wird auch in der Literatur bestätigt (siehe Kapitel 2.3.2). Erste Versuche zur Wiederverwendbarkeit der Immobilisate mit den kurzkettigen Fluor-Tags zeigten im zweiten Zyklus einen Aktivitätsverlust von 35 %. Die Enzyme wurden von der Membran abgelöst und im Überstand nachgewiesen. Diese Ergebnisse bestätigen, dass die Perfluorpropansäure als Fluor-Tag in diesem Anwendungsfall zu kurz ist, um ausreichend an der Nafion™ Membran zu haften. Für zukünftige Versuche wird auf die Verwendung von längererkettigen Fluor-Tags verwiesen.

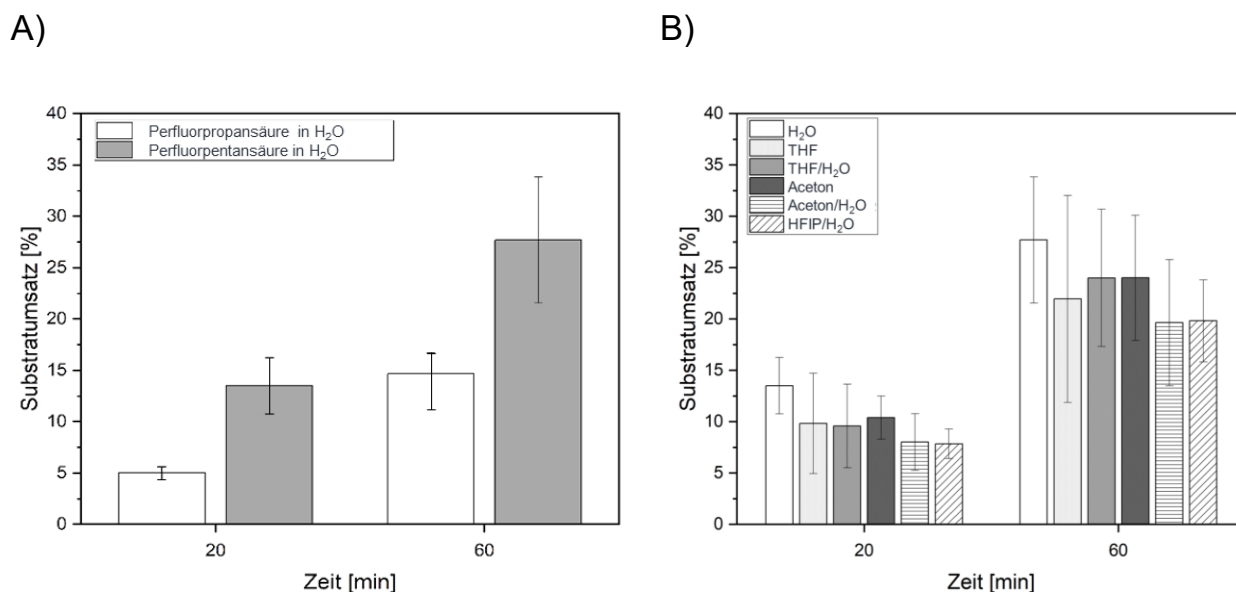


Abbildung 5-10: *p*-NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL an Nafion™ mit kurzkettigen Fluor-Tags: (A) Variation des Fluor-Tags: Perfluorpropan- vs. Perfluorpentansäure, (B) Variation der Lösungsmittel für Perfluorpentansäure (A_Adami 2023).

Einfluss des Lösungsmittels

Des Weiteren wurde der Einfluss der Lösungsmittelwahl auf den Immobilisierungserfolg untersucht. Da Perfluorpentansäure nur teilweise in Wasser löslich ist ²³, wurden verschiedene andere Lösungsmittel (THF, HFIP, Aceton und Mischungen der Lösungsmittel) untersucht und verglichen, mit dem Ziel den Substratumsatz weiter zu erhöhen. Es stellte sich heraus, dass die Wahl des Lösungsmittels kaum Auswirkungen auf den Substratumsatz und damit den Immobilisierungserfolg hatte (siehe Abbildung 5-10 B). Der höchste Umsatz wurde mit 28 % in Reinstwasser gemessen. Weitere Untersuchung wurden daher mit Reinstwasser durchgeführt. Für zukünftigen Studien mit länger-kettigen Fluor-Tags ist zu beachten, dass die Wasserlöslichkeit nicht mehr gegeben ist und andere Lösungsmittel verwendet werden müssen.

Generell ist das Absorptionsverhalten von Lösungsmitteln von der Nafion™ Membran zu beachten. Bekanntlich quillt die Membran beim Einsatz von wasserbasierten Lösungsmitteln. Obwohl die Ergebnisse keinen Einfluss des Lösungsmittels auf den Substratumsatz zeigten, kann ein starkes Aufquellen der Membran dazu führen, dass das

²³ <https://www.fishersci.ch/shop/products/perfluoropentanoic-acid-97-thermo-scientific/11457164>

Enzym von der Membran eingeschlossen wird, und für das Substrat nicht mehr zugänglich ist. Längere, mehrarmige Linker (vgl. Abbildung 4-6) könnten eine bessere Zugänglichkeit des Substrates durch einen größeren Abstand zur Membran gewährleisten. Weitere Experimente zum Quellverhalten werden in Kapitel 5.3.1 beschrieben.

Optimierung Probenhandling

Da der Umgang mit Nafion™ Membranen aufgrund ihres ausgeprägten Quellverhaltens in wässrigen Lösungsmitteln herausfordernd ist, wurden Anstrengungen unternommen, um das Probenhandling zu optimieren. Besonders Proben mit großem Membrandurchmesser könnten an Reaktionsgefäßen haften oder sich falten, was dem Erfolg der Enzymimmobilisierung verringern könnte. Zur Demonstration wurde ein *p*-NPA Assay mit Proben mit unterschiedlichem Membrandurchmesser gemacht (siehe Abbildung 5-11, vergleiche Probe A: $D = 6$ mm und Probe B: $D = 25$ mm). Das Ergebnis bestätigt die Vermutung. Probe B zeigt einen deutlich reduzierten Substratumsatz. Zur Optimierung wurden die Membranen mit $D = 25$ mm in eine magnetische Einspannvorrichtung gespannt (siehe Bild C) und anschließend die Enzyme immobilisiert. Die Verwendung der Einspannvorrichtung führte zu einem Umsatz von über 40 %, was eine deutliche Steigerung gegenüber der Proben ohne Einspannvorrichtung darstellt. Die Verwendung der Einspannvorrichtung hatte einen positiven Effekt auf die Handhabung der Nafion™ Membran und auf den Erfolg der Enzymimmobilisierung. Die Fixierung verbessert die Zugänglichkeit der Medien zur Immobilisierung. Mehr Enzyme können an die Membran binden. Für folgende Versuche im Labormaßstab empfiehlt sich die Verwendung der Einspannvorrichtung.

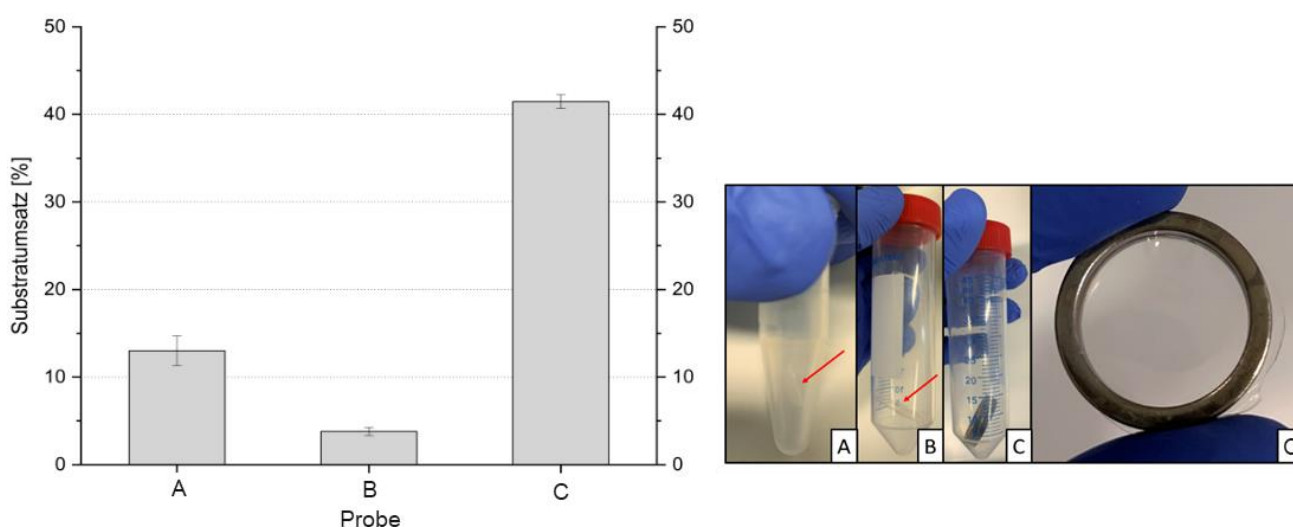


Abbildung 5-11: *p*-NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL an Nafion™ mittels Fluor-Tag (100 mM Perfluorpropansäure in Reinstwasser) bei Variationen des Membrandurchmessers (A) und (B), und bei Verwendung einer Einspannvorrichtung (C) (A_Schwarzer 2023).

5.2.3 Immobilisierung über selektive Peptidlinker

Fluorfreie Linker wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Mikrotechnologie (IMT) und dem Unternehmen axxelera UG²⁴ untersucht, insbesondere solche die ausschließlich auf Peptiden basieren. Ziel war es, nach alternativen Lösungen zu suchen, die ohne Beteiligung der Fluorchemie auskommen. Dies könnte zukünftig die Integration des Linkers in eine rekombinante Herstellung des Enzyms ermöglichen. (Def.: Rekombinante Proteine sind biotechnologisch hergestellte Proteine, die mit Hilfe von gentechnisch veränderten Organismen oder Zellen erzeugt werden.) Das hätte den Vorteil, dass Linker und Enzym bereits bei der Herstellung miteinander verbunden wären. Damit entfällt der Arbeitsschritt, der das Enzym mit dem Linker verbindet. Das fertige Linker-Enzym-Konstrukt muss nur noch mit einem Lösungsmittel auf die Membran aufgetragen werden. Im Folgenden werden die wichtigsten Ergebnisse vorgestellt. Die ausführlichen Ergebnisse sind in Veröffentlichung von der Autorin dieser Arbeit und Schmidt et al. (2023) beschrieben. Detaillierte verwendete Materialien und Methoden sind der Veröffentlichung zu entnehmen.

²⁴ <https://axxelera.com/>

Screening von selektiven Peptidlinkern

Es sollen Peptide identifiziert werden, die eine selektive Affinität zu Nafion™ aufweisen. Dazu wurde eine neue Screening Methode entwickelt. Die Methode besteht darin, einen Peptidchip mit mehr als 50.000 Peptidkandidaten mit einer Nafion™ Dispersion zu inkubieren. Der Peptidchip besteht aus einem Glasobjektträger auf dem tausende „Peptidspots“, also einzelne Peptide kovalent befestigt sind und nach oben ragen. Umhaust wird der Chip von einer Inkubationsschale, siehe Abbildung 5-12 (a). Die Nafion™ Dispersion besteht aus dispergierten Nafion™-Ionomeren in einem Ethanol-Propanol-Wasser-Gemisch. Während der Inkubation wird die Nafion™ Dispersion für 12 h auf die Peptide gegeben. Nach der Inkubation folgt ein Waschvorgang, um nicht bindende Nafion™-Ionomere abzuwaschen. Da Nafion™ fluoresziert, können Peptide, die daran binden, per Fluoreszenz detektiert werden. Dazu wurde ein Hochgeschwindigkeits-Fluoreszenzscanner verwendet.

Abbildung 5-12 zeigt den Peptidchip in der Inkubationsschale (A). In acht Vertiefungen wurden acht verschiedene Konzentrationen des Nafion™-Ionomers gegeben. (B) und (C) zeigen einen Ausschnitt der Screening Ergebnisse mit teilweise fluoreszierenden Proben. (D) zeigt das Höhenprofil eines Ionomerfilms, der sich auf den Peptidspots angesammelt hat. Drei von sechs Spots zeigten eine Affinität zu Nafion™, sie erscheinen rot. Die Ionomerdicke auf dem Peptidspot mit der höchsten Affinität (obere linke Ecke) beträgt ca. 2 nm. Das Höhenprofil wurde mit einem *Vertical Scanning Interferometer* aufgenommen.

Die höchste Bindungsaffinität zeigte ein Peptid, zusammengesetzt aus den sechs Aminosäuren WIWHCW (Trp-Ile-Trp-His-Cys-Trp oder Tryptophan-Isoleucin-Tryptophan-Histidin-Cystein-Tryptophan), siehe Abbildung 5-13. Das Peptid ist Helix-förmig. Die Dissoziationskonstante gibt die Bindungsaffinität des Peptids an das Nafion™-Ionomer an. Die Dissoziationskonstante des Peptids liegt im Bereich von 100 μM bis 200 μM . Das ist deutlich schwächer als die durchschnittliche Affinität von Antikörpern zu Antigenen (~ 10 nM). Sie liegt aber im Bereich der meisten Protein-Protein-Wechselwirkungen in der Zelle (Lian 2013). Ob die Bindungsaffinität ausreicht, um Enzyme mit diesem Peptid an die Nafion™ Membran zu binden, wurde im nächsten Schritt untersucht.

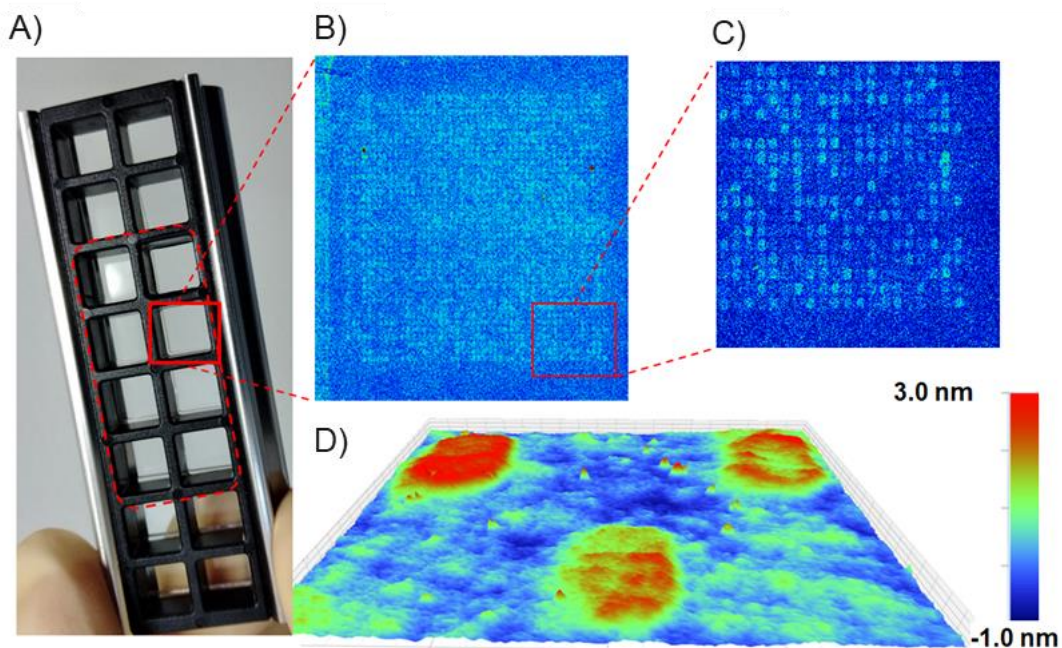


Abbildung 5-12: Peptidchip (A) und Screening Ergebnis zur Identifizierung von bindenden Peptiden an Nafion™-Ionomere (B-D) (Schmidt et al. 2023).

Eine Untersuchung zum Austausch einzelner Aminosäuren in der Peptidsequenz zeigte die Wichtigkeit der Aminosäuren Tryptophan und Histidin. Sie bilden eine spezifische Bindungstasche aus. Abbildung 5-13 zeigt die Struktur des Peptids und die abstrahierte schematische Darstellung der selektiven Bindungsgeometrie als Greifhand mit den Seitenketten Trp und His als Finger. Als Erklärung dient eine Studie, die den Protonentransfer über die $\text{NH}\cdots\text{N}$ -Wasserstoffbindung zwischen den Indol- und Imidazol-Seitenketten von Trp- und His-Dimeren beobachtete (Bellina et al. 2015). Die Haftung könnte auf Wasserstoffbrückenbindungen beruhen. Die potenzielle Protonenleitfähigkeit von WIWHCW könnte mit spezifischen Bindungsmechanismen zwischen dem Peptid und Nafion™ zusammenhängen. Laut der Proteindatenbank *UniProt* wurde dieses Peptid zuvor in mehreren niederen Tieren, insbesondere im Fadenwurm *Wuchereria bancrofti* identifiziert (UniProt 2023).

Das Screening wurde mit einer relativ kleinen Peptidbibliothek von 56.014 verschiedene 6-mer Peptide durchgeführt. Verglichen mit der vollständigen Kombinatorik von 20 Standardamino­säuren für eine Sequenz mit 6 Resten (64 Mio. Peptide) sind das

< 0,09 %. Um nach potenziell stärker bindenden Peptiden zu suchen, kann die Peptidbibliothek erheblich erweitert werden.

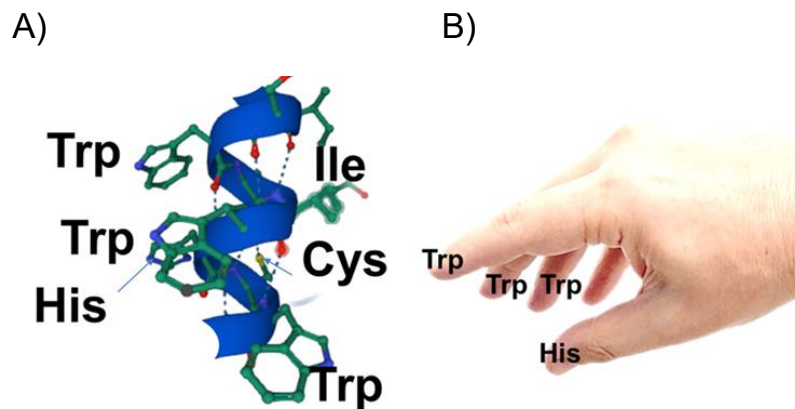


Abbildung 5-13: Screening Ergebnis: Struktur des am stärksten haftenden Peptids WIWHCW (A), Schematische Darstellung der selektiven Bindungsgeometrie als Greifhand mit den Seitenketten Trp und His als Finger (B) (Schmidt et al. 2023).

Anhaftung identifizierter Peptidlinker an Nafion™ Membranen

Mehrere identifizierte Peptidlinker wurden anschließend auf direkte Anhaftung an der Nafion™ Membran untersucht. Während das Screening mit kovalent gebundenen Peptiden in Gegenwart der Nafion™ Dispersion durchgeführt wird, wird in diesem Fall umgekehrt eine selektive Bindung zwischen der Nafion™ Membran und der Peptidlösung beobachtet. Dazu wird die Nafion™ Membran anstelle des Peptidchips auf einen Glasobjektträger gelegt und in der Inkubationsschale fixiert. Dies ermöglicht die Inkubation verschiedener Peptide in den Vertiefungen der Schale und den Vergleich ihrer Adhäsion auf der Membranoberfläche. Die Adhäsion des Peptids AWIWHCW wurde untersucht. Ein Fluoreszenzfarbstoff Cy5 wurde an das Ende der Aminosäure A (Ala, Alanin) an die Peptide gebunden, um die Haftung optisch zu charakterisieren. Als Kontrollpeptid diente ein HA-Epitop (AYPYDVPDY), bei dem keinerlei Haftung bei den Experimenten mit der Nafion™ Dispersion beobachtet wurde.

Da die Nafion™ Membran ebenfalls fluoresziert, wurden die Messwerte auf die Autofluoreszenz der Nafion™ Membran (I_b) normiert. Die der Fluoreszenzintensitäten der Peptide (I_p) wurden ermittelt. Nach 15 min Inkubationszeit hatte der Peptidlinker WIWHCW ein I_p/I_b -Verhältnis von 1,31 und das Kontrollprobe von 1,05, siehe Abbildung 5-14. Die Differenz zwischen Peptidlinker und Kontrollprobe zeigt, dass der Peptidlinker an der Nafion™ Membran anhaftet.

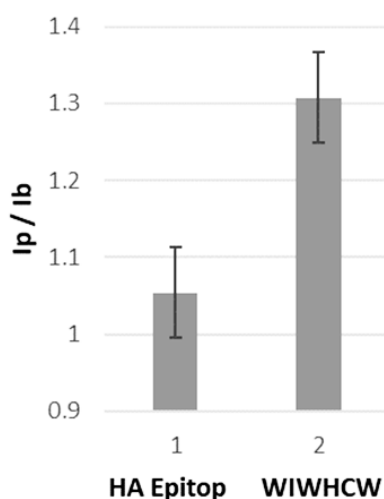


Abbildung 5-14: Fluoreszenzintensität der Nafion™ Membran mit dem Peptidlinker WIWHCW und Kontrollprobe HA-Epitop. Die Intensitäten der Proben (I_p) wurde auf die Autofluoreszenz der Nafion™ Membran (I_b) normiert (Schmidt et al. 2023).

5.2.4 Fazit

Folgende Schlussfolgerungen ergeben sich im Detail aus den Untersuchungen:

- Eine **kovalente Immobilisierung des Enzyms an Nafion wurde aus anwendungstechnischen Gründen vermieden**. Die Übertragbarkeit der Methode aus Kapitel 5.1 ist nur für die Bindung zwischen Linker und Enzym gegeben. Hier soll ein Carbodiimid als Kopplungsreagenz die Bindung induzieren. Für die Bindung des Linkers an die Membran sind alternative Immobilisierungstechniken erforderlich.
- Die **erfolgreiche und stabile Enzymimmobilisierung per Fluorophilie** wurde **experimentell mit einem F-Rhodamin-Linker** gezeigt, der zwei Fluor-Tags besitzt und das Enzym erfolgreich an Nafion™ gebunden hat. Die erfolgreiche Immobilisierung wurde per *p*-NPA Assay nachgewiesen (Substratumsatz nach 20 min von 24 %). Die Affinität des Linkers zur Membran wurde im Fluoreszenzmikroskop optisch demonstriert. Der Linker verlor seine Affinität zur Membran nicht über einen Zeitraum von 24 h und unter Exposition der reinen Lösungsmittel Methylenchlorid, Acetonitril, Perfluorhexan und DMF.
- Die **Länge des Fluor-Tags hat Einfluss auf die Stärke** der fluorophilen Wechselwirkung zwischen Fluor-Tag und Membran. Der Einfluss wurde im Vergleich deutlich (Substratumsatz nach 20 min für Immobilisierung mittels Perfluorpropansäure

5 %, mittels Perfluorpentansäure 13 %, mittels F-Rhodamin-Linker 24 %). Immobilisate mit Perfluorpropansäure lösten sich nach einem Waschschrte wieder von der Membran ab (Aktivitätsverlust 35 %).

- **Das Probenhandling** der stark quellenden und zur Faltung neigenden Nafion™ Membranen im Labor konnte den Einsatz einer Einspannvorrichtung für die Membran **optimiert** werden. Die Einspannvorrichtung verbesserte die Zugänglichkeit der Medien zur Immobilisierung und des Substrates deutlich und führte zu einem gesteigerten Substratumsatz von > 40 %.
- Eine **fluorfreie Option zur Immobilisierung von Enzymen an Nafion™ Membranen per selektivem Peptidlinker** wurde etabliert. Das **Peptid WIWHCW** wurde in einem Screening von über 50.000 Peptidsequenzen identifiziert. Die Dissoziationskonstante lag im Bereich von 100 µM bis 200 µM, was vergleichbar mit Protein-Protein-Wechselwirkungen in einer Zelle ist. Die Affinität des Linkers zur Nafion™ Membran beruht auf der Konformation des Peptides, die wie durch die Seitenketten Trp und His eine Art Greifhand bildet.

Zukünftige Perspektiven:

- Weitere Arbeiten zur Immobilisierung der Enzyme an Nafion™ per Fluorophilie sollten einen einzelnen Fluor-Tag der Länge C₈F₁₇ oder mehrarmige Fluor-Tags für eine **ausreichende Affinität zur Membran** verwenden. Die optimale Kettenlänge für die Anwendung in der PEMFC soll bestimmt werden. Diese Anpassungen können durch das modulare Konzept des Linkerdesigns umgesetzt werden.
- Es soll eine Methode entwickelt werden, mit der untersucht werden kann, ob die **Haftigenschaften des selektiven Peptidlinkers** für die Anbindung von Enzymen an Nafion™ ausreicht. Zudem können weitere Peptide gescreent werden.
- **Die Haftigenschaften beider Immobilisierungsmethoden müssen anschließend unter den genannten Betriebsbedingungen der PEMFC (Kapitel 4.1) untersucht werden.**

5.3 Untersuchungen zur Füllstoffsynthese durch Enzyme

Im Anschluss an die Untersuchung möglicher Immobilisierungsstrategien für Enzyme auf der Nafion™ Membran wurde der zweite Schritt des enzymatischen Selbstheilungsmechanismus untersucht: Die enzymatische Polymerisation eines geeigneten Füllstoffes zum Verschluss der Pinholes. Der Füllstoff sollte fluoriert sein, um durch Fluorophilie an der perfluorierten Nafion™ Membran haften zu können. Ebenso muss das Monomer bereits fluoriert sein.

Um das Monomer in einem Selbstheilungszyklus der PEMFC zuführen zu können, muss ein geeignetes Lösungsmittel gewählt werden. In diesem Zusammenhang wurden experimentelle Untersuchungen zur Wechselwirkung von Lösungsmitteln mit der Membran durchgeführt (Kapitel 5.3.1). Die Experimente wurden im Rahmen einer studentischen Arbeit durchgeführt, die von der Autorin dieser Arbeit betreut wurde (A_Adami 2023).

Zur Demonstration der enzymatischen Polymerisation wurde als Monomer exemplarisch ein fluoriertes cyclisches Carbonat ausgewählt. Die Synthese des Monomers sowie dessen Charakterisierung mittels SEC und NMR sind in Kapitel 5.3.2 beschrieben. Die Synthese ist das Ergebnis der von der Autorin dieser Arbeit betreuten Abschlussarbeit (A_Moench 2023).

Anschließend wurde eine Ringöffnungspolymerisation (ROP) mit dem fluorierten cyclischen Carbonat durchgeführt. Primäres Ziel war die Charakterisierung des fluorierten Polymers. Dazu musste eine ausreichende Polymermenge sichergestellt werden. Daher wurde die Polymerisation zunächst mit der besonders aktiven Form von CALB, Novozym 435 (N435), durchgeführt. Die Charakterisierung des erhaltenen Polymers erfolgte mittels SEC, DSC und TGA (vgl. Kapitel 5.3.3).

Im nächsten Schritt wurde die Polymerisation mit auf der Nafion™ Membran immobilisierten CRL durchgeführt. Die erwartete Anlagerung des Polymers an der Membran wurde mittels ToF-SIMS verifiziert (Kapitel 5.3.4).

Die Durchführung der analytischen Methoden wurde durch das Soft Matter Synthesis Labor²⁵ des KIT unterstützt.

²⁵ <https://www.ibg.kit.edu/ibg3/55.php>

5.3.1 Charakterisierung von Lösungsmittelinteraktionen der Nafion™ Membran

Im Folgenden wird das Verhalten der Nafion™ Membran in verschiedenen Lösungsmitteln erörtert, da der Herstellungsprozess der funktionalisierten Membran sowie die anschließende Polymerisation lösungsmittelbasierte Verfahren darstellen.

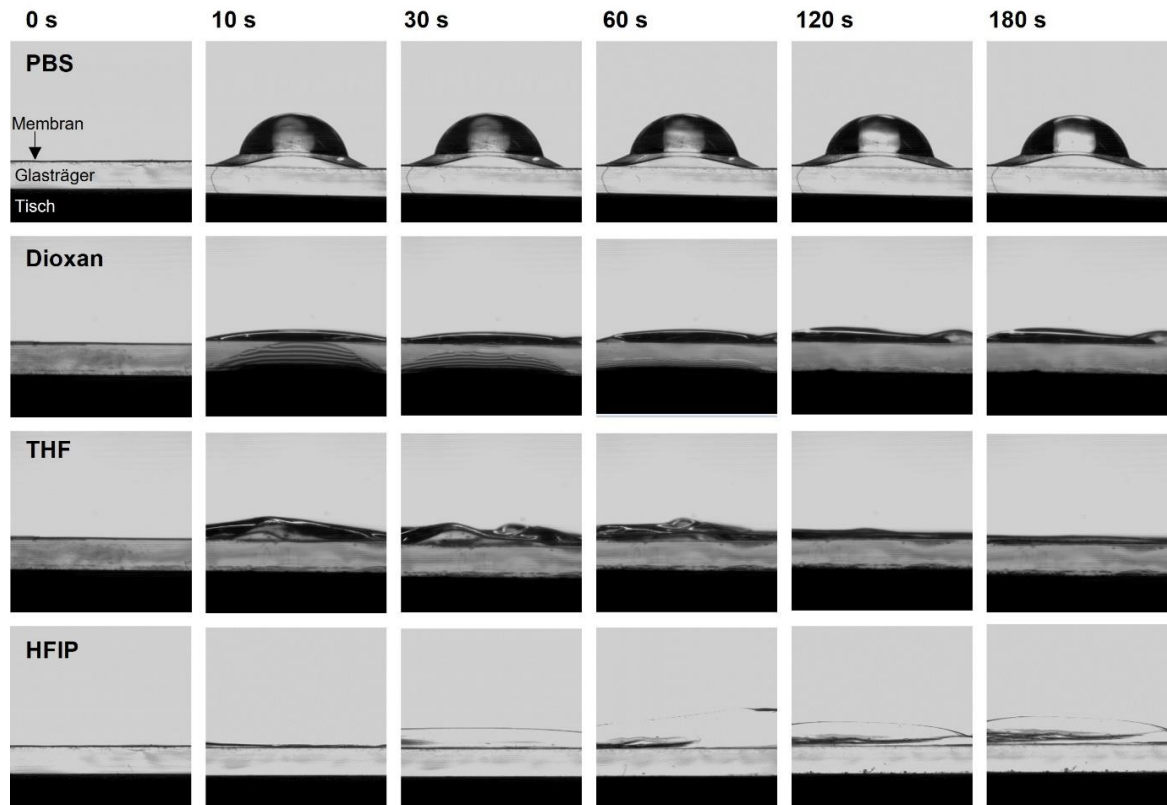
Im Rahmen des Herstellungsprozesses der CCM findet das Membrandirektbeschichtungsverfahren Anwendung, bei dem die flüssige Katalysatortinte auf die Membran aufgetragen wird (vgl. Kapitel 2.1.2). Zusätzliche Kontaktphasen ergeben sich bei der Applikation der Enzymschicht sowie bei der Polymerisationsreaktion, wobei das im Lösungsmittel gelöste Monomer der PEMFC zugeführt wird. Ein Nachteil dieser Nassapplikationen auf Nafion™ Membranen besteht in der möglichen Quellung des Materials durch das Lösungsmittel.

Zur Evaluation geeigneter Lösungsmittel wurde das Verhalten der Membran in Kontakt mit verschiedenen Lösungsmitteln analysiert. Die Interaktionen wurden mittels der Sessile-Drop-Methode analysiert (siehe Anhang B.11). Die Änderung der Membrandicke wurde über einen Zeitraum von 180 Sekunden optisch erfasst, siehe Abbildung 5-15.

Die Intensität der Membranquellung resultiert aus den verschiedenen Interaktionen der Lösungsmittel mit den hydrophilen Haupt- und den hydrophoben Seitenketten von Nafion™. Lösungsmittel mit einer höheren Hydrophilie, wie beispielsweise Phosphatpuffer (PBS), Dioxan, Tetrahydrofuran (THF) und Hexafluorisopropanol (HFIP), führten zu einer stärkeren Quellung. Auch eine starke Membranquellung wurde bei Alkoholen wie Ethanol, 1-Propanol und 1-Butanol beobachtet (nicht dargestellt). Im Gegensatz dazu konnte bei hydrophoben Lösungsmitteln wie Butylether, Cyclohexan oder Toluol lediglich eine geringfügige Membranquellung beobachtet werden.

Bei der Auswahl des Lösungsmittels für die Polymerisation sind neben der Interaktion mit der Membran auch die Löslichkeit des Monomers sowie die Enzymaktivität zu berücksichtigen.

A) Hydrophile Lösungsmittel



B) Hydrophobe Lösungsmittel

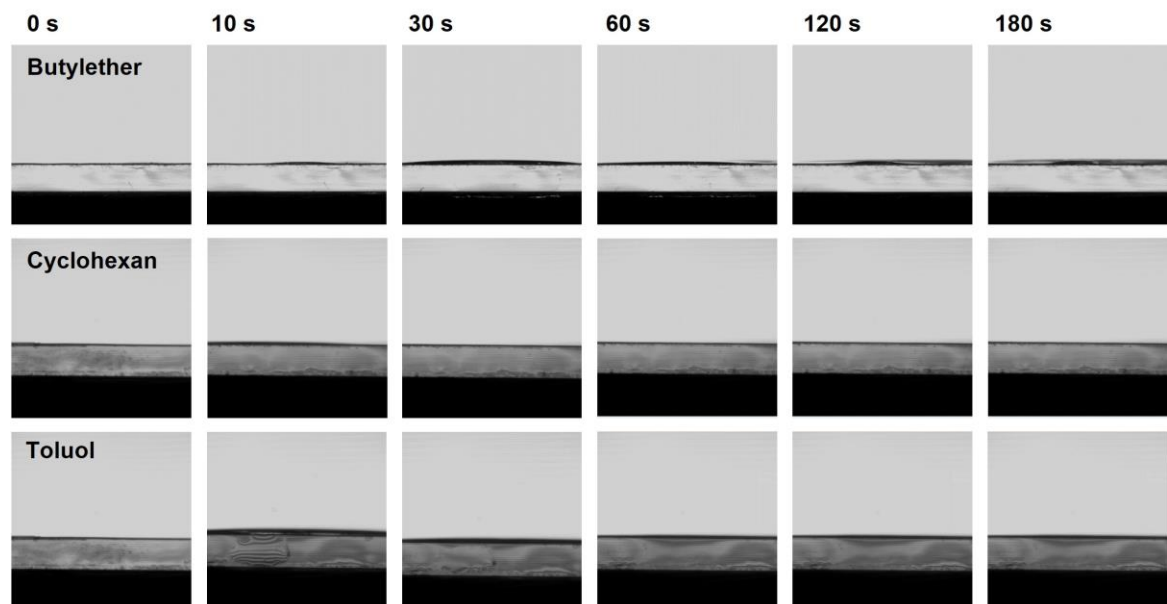


Abbildung 5-15: Ausschnitt der Ergebnisse zur Lösungsmittelinteraktion mit NafionTM Membranen über eine Zeitspanne von 0 bis 180 Sekunden (A_Adami 2023).

5.3.2 Synthese eines fluorierten Carbonatmonomers

Wie bereits in Kapitel 2.3.3 dargelegt, eignen sich cyclische Carbonate in besonderem Maße für die enzymatische Polymerisation. Um die Haftung des Füllstoffs an der Membran zu ermöglichen, ist die Verwendung eines fluorierten Carbonats erforderlich. Im Folgenden wird die Synthese des fluorierten cyclischen Carbonatmonomers 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on beschrieben, welches im weiteren Verlauf der Untersuchungen für die enzymatische Polymerisation getestet wurde. Die Abbildung 5-16 gibt den Syntheseweg wieder.

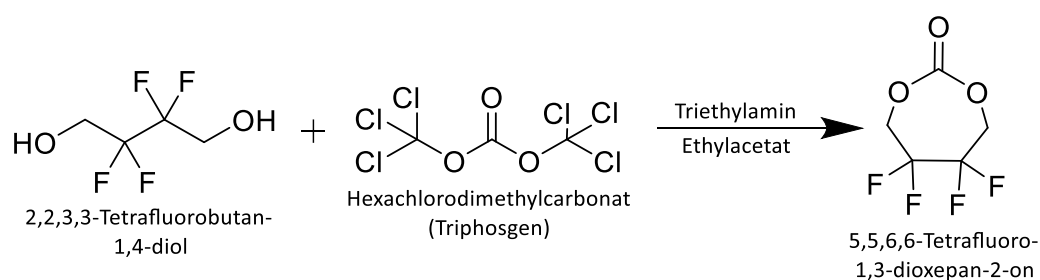


Abbildung 5-16: Synthese des fluorierten cyclischen Carbonats 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on (A_Moench 2023).

Als Edukt diente 2,2,3,3-Tetrafluorobutan-1,4-diol, welches mit Triphosgen zum 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on reagierte. Das Reaktionsprodukt wurde mittels präparativer Säulenchromatographie aufgereinigt. Die Synthese wurde in Bezug auf Ausbeute, Reinheit und Reproduzierbarkeit optimiert, mittels systematischer Variation der Lösungsmittel, Temperatur und Reaktionszeiten. Die detaillierte experimentelle Durchführung, sowie die analytischen Messungen sind den Anhängen B.12 und C.3 zu entnehmen.

Unter Verwendung von Triethylamin als Katalysator und Ethylacetat als Lösungsmittel wurden Ausbeuten von über 90 % im Up-Scale-Prozess mit dem zwei- und dreifachen Ansatz erzielt. Es wurde ein farbloser, klebriger Feststoff erhalten. Das Produkt wurde mittels Kernresonanzspektroskopie (NMR) verifiziert und die Reinheit überprüft. Abbildung 5-17 zeigt das ^1H NMR-Spektrum des Produktes und des Eduktes.

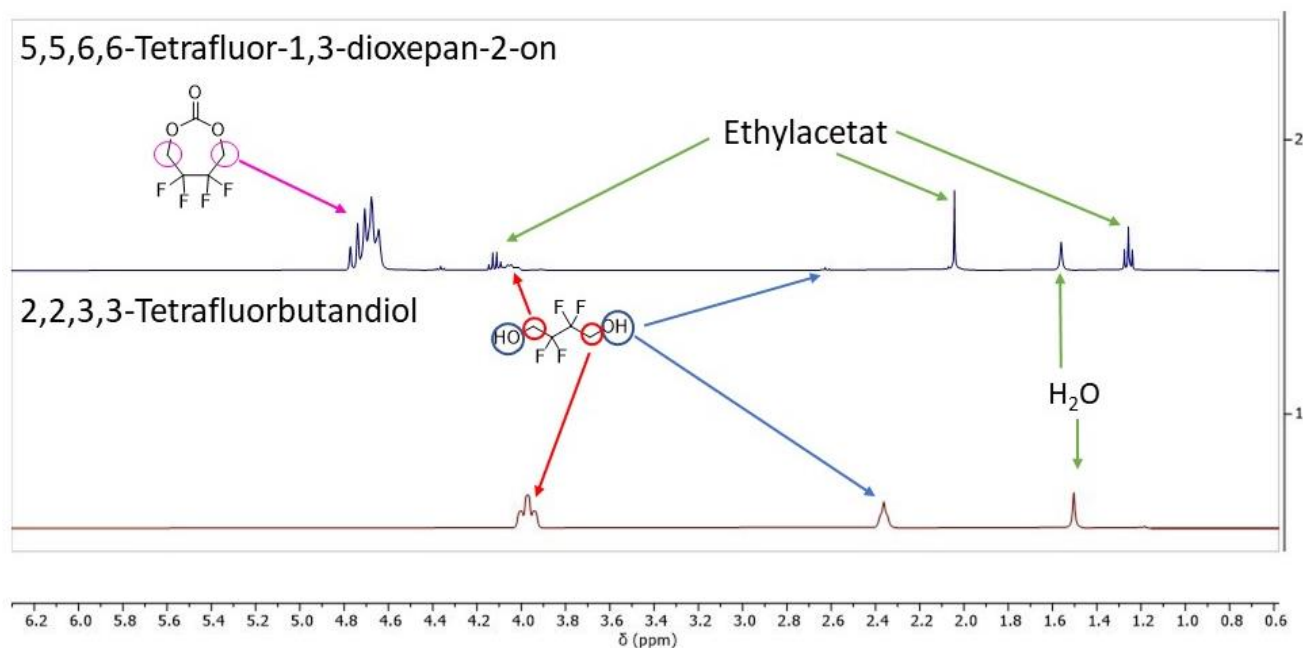


Abbildung 5-17: ^1H NMR-Spektrum des Produktes 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on (oben) und des Eduktes 2,2,3,3-Tetrafluorbutandiol (unten) (A_Moench 2023).

Das fluorierte cyclische Carbonatmonomer 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on ist an den Peaks bei 4,9-4,6 ppm zu erkennen. Des Weiteren sind Überreste des Lösungsmittels Ethylacetat erkennbar, was noch nicht vollständig aus dem Produkt entfernt wurde.

Eine Optimierung bestünde im Austausch des toxischen Kupplungsreagenz Triphosgen. In zukünftigen Experimenten könnten nachhaltigere Alternativen wie Dimethylcarbonat oder Diphenylcarbonat verwendet werden.

Das fluorierte cyclische Carbonatmonomer 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on diente im Folgenden als Monomer für die enzymatische Polymerisation zur Herstellung eines Füllstoffs.

5.3.3 Polymerisation eines fluorierten Carbonats mit N435

Der folgende Abschnitt befasst sich mit dem Nachweis der enzymatischen Polymerisation des im Kapitel 5.3.2 hergestellten fluorierten Carbonats. Die durchgeführten Versuche dienen der Demonstration der enzymatischen Synthese eines fluorierten Poly-

mers aus dem Monomer. Das hergestellte fluorierte Carbonatmonomer (5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on) wurde in einer Ringöffnungspolymerisation (ROP) mit der Lipase N435 und dem Lösungsmittel Toluol zu einem Polymer umgesetzt. Anhand von Vorversuchen der studentischen Arbeit (A_Moench 2023) wurde deutlich, dass Toluol neben HFIP geeignete Lösungsmittel sind. Aufgrund der toxischen Eigenschaften von HFIP wurde Toluol jedoch präferiert. Des Weiteren ist die Verwendung von Toluol zur Herstellung von Polycarbonaten in der Literatur beschrieben (Feng et al. 2009). Darüber hinaus wies Toluol ein geringes Quellverhalten bei der Interaktion mit Nafion™ auf (vgl. Abbildung 5-18). Der Reaktionsmechanismus dieser ROP ist in Abbildung 5-18 dargestellt.

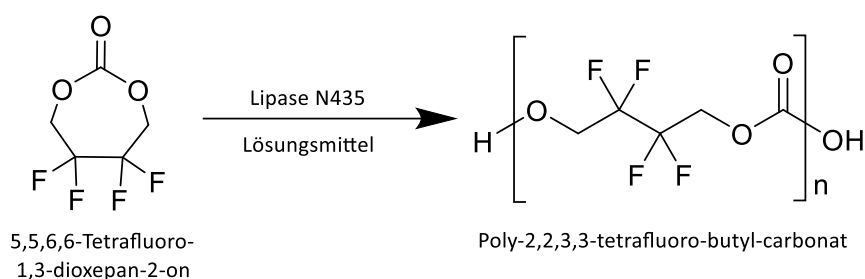


Abbildung 5-18: Enzymatische Ringöffnungspolymerisation (ROP) des Monomers 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on zum Polymer Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat mittels der Lipase N435 in Toluol (A_Moench 2023).

Die enzymatische Polymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on wurde nach aktuellem Kenntnisstand und Literaturrecherche noch nicht durchgeführt und stellt somit eine Neuerung dar.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden zwei Versuchsreihen der enzymatischen Polymerisation mit N435 durchgeführt. Darüber hinaus wurde eine chemische Polymerisation als weitere komparative Methode in die Untersuchung miteinbezogen. Das Reaktionsprodukt wurde durch Filtration der N435-Enzymkugeln und anschließender Entfernung des Lösungsmittels im Rotationsverdampfer isoliert. Die als Feststoff vorliegenden Polymerisate und Kontrollen wurden mittels Größenausschlusschromatographie (SEC), Differenzkalorimetrie (DSC) und Thermogravimetrischer Analyse (TGA) analysiert. Die detaillierte Darstellung der experimentellen Durchführung sowie der analytischen Methoden findet sich in den Anhängen B.13, B.14, C.4 und C.5.

Erste Versuchsreihe

Die erste Versuchsreihe der enzymatischen Polymerisation mit N435 resultierte in einer relativ breiten Molmassenverteilung, wobei ein klar erkennbarer Peak im höhermolekularen Bereich zwischen 1.000-10.000 g/mol erkennbar war. In Abbildung 5-19 ist das gesamte Chromatogramm sowie ein Ausschnitt für den Bereich zwischen 1.000 und 10.000 g/mol dargestellt. Die normierten Intensitäten der UV-Absorption sowie des Brechungsindex (RI) sind über die Molmasse des Polymerisats dargestellt. Aufgrund der Tatsache, dass Fluorpolymere häufig einen geringeren Brechungsindex aufweisen als die gängigen Lösungsmittel (RI des Fluorpolymers PTFE = 1,38 (Mark 2007) vs. RI des Lösungsmittel THF = 1,41 (Roempp-Redaktion & Jahn 2011)) können negative RI-Signale beobachtet werden. Diese Signale wurden ebenfalls ausgewertet.

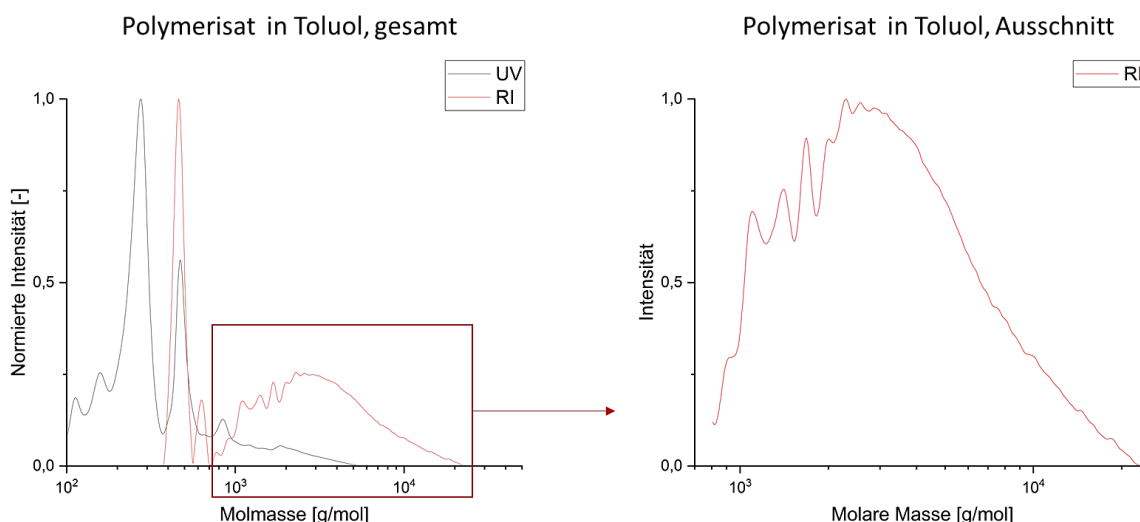


Abbildung 5-19: SEC-Chromatogramme. Darstellung der Molmassenverteilung des fluorierten Polymers Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch N435 in Toluol im ersten Ansatz.

Der Ausschnitt des Chromatogramms zeigt das Vorhandensein eines höhermolekularen Polymers. Die zahlenmittlere Molmasse des Polymerpeaks betrug $M_n = 3,03 \cdot 10^3$ g/mol. Eine Aussage über die tatsächlichen Molmassen des gesamten Polymers kann jedoch nicht getroffen werden, da eine Analyse des hochmolekularen, unlöslichen Anteils des Polymerisats mittels SEC nicht möglich war. Der unlösliche Anteil, welcher

deutlich mit dem bloßen Auge wahrnehmbar war, wurde durch den Filter bzw. die Vorssäule der SEC zurückgehalten. Die Ergebnisse der SEC weisen darauf hin, dass sich ein unlösliches Polymer gebildet hat. Dies lässt sich durch die nachweisbare, wiederkehrende Ausschlussgröße von $3 \cdot 10^3$ g/mol sowie durch die unlöslichen Anteile erklären. Dies wäre ein Erfolg, da für die Selbstheilung ein Füllstoff mit einer umfangreichen Kettenbildung wünschenswert ist.

Chemische Polymerisation als Referenz

Zur besseren Einordnung der Ergebnisse wurde eine zusätzliche chemisch katalysierte Polymerisation des fluorierten Carbonatmonomers durchgeführt. Im Rahmen der durchgeführten Versuche wurde der chemische Katalysator Triazabicyclodecen (TBD) im Lösungsmittel Dichlormethan (DCM) eingesetzt. Der Reaktionsmechanismus ist in Abbildung 5-20 dargestellt.

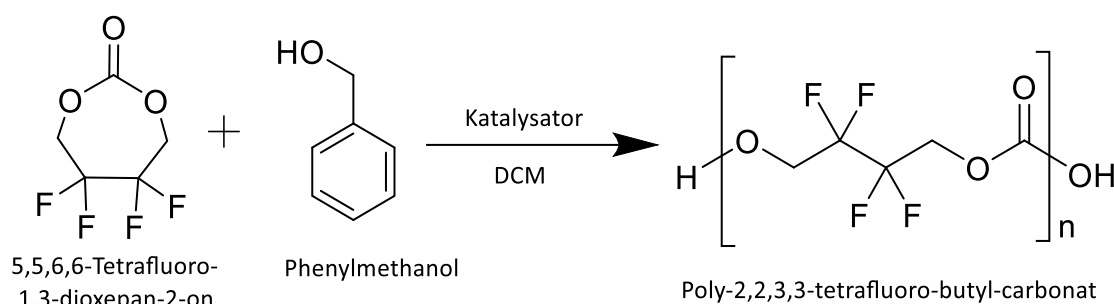


Abbildung 5-20: Chemische Polymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on zu Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat (A_Moench 2023).

Im Gegensatz zur enzymatischen Polymerisation wurde das Rohprodukt in diesem Fall mittels eines Silicapads abgetrennt. Das resultierende Polymerisat wies im Gegensatz zum festen, klebrigen Monomer und den enzymatisch hergestellten Polymerisaten eine zähflüssige Konsistenz auf. Abbildung 5-21 zeigt das gesamte Chromatogramm, sowie einen Ausschnitt für den Bereich um 1.000 g/mol.

Die zahlenmittlere Molmasse des zweiten Peaks betrug $M_n = 1,03 \cdot 10^3$ g/mol. Diese Molmasse ist geringer als die des Polymerisats der enzymatischen Polymerisation. Die niedrigere Molmasse und die zähflüssige Konsistenz weisen auf die Bildung eines niedermolekularen Oligomers hin. Das enzymatisch hergestellte Polymer war dem chemisch katalysierten Polymer überlegen.

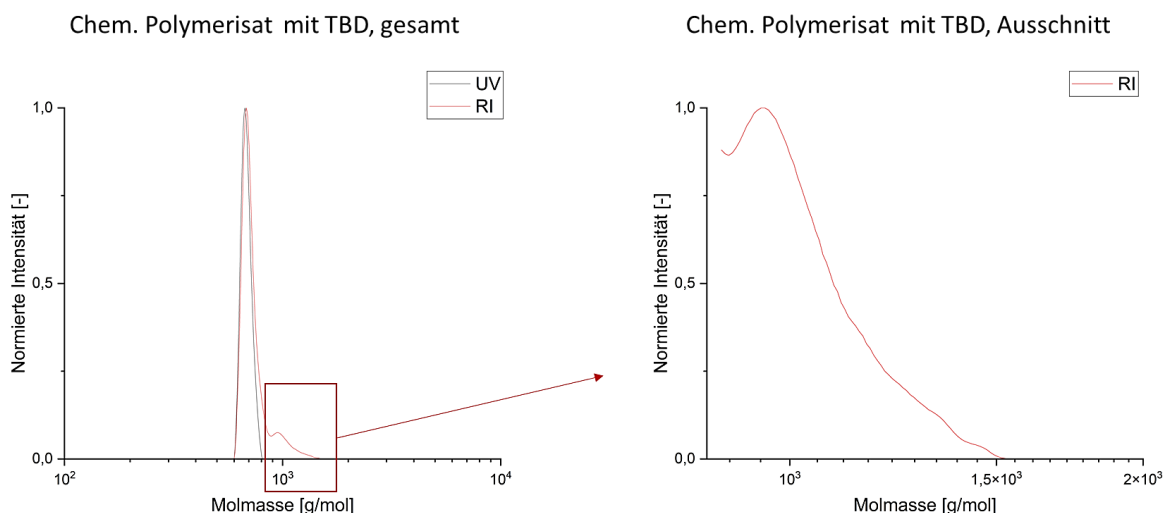


Abbildung 5-21: SEC-Chromatogramme. Darstellung der Molmassenverteilung des Polymers Poly-2,2,3,3-tetrafluor-butyl-carbonat durch eine chemische Polymerisation mit dem Katalysator TBD in DCM.

Thermische Analysen

Für die Charakterisierung eines Polymers kann die Durchführung einer NMR-Analyse sinnvoll sein, um die chemische Zusammensetzung der Probe zu bestimmen. Aufgrund der geringen Löslichkeit des erhaltenen Feststoffs konnte jedoch kein NMR-Spektrum aufgenommen werden. Stattdessen wurden thermische Analysen mittels DSC und TGA durchgeführt, um die erfolgreiche Synthese des fluorierten Polymers zu bestätigen.

Die Ergebnisse der enzymatischen Polymerisation mit N435 und der chemischen Polymerisation mit TBD sind in Abbildung 5-22 gegenübergestellt. Der Wärmestrom ist über die Temperatur zwischen -80 °C und 160 °C aufgetragen. Die Kristallisationstemperatur (T_k) wurde während des Abkühlvorgangs und die Glasübergangstemperatur (T_g) sowie die Schmelztemperatur (T_m) während des zweiten Aufheizvorgangs ermittelt.

Das enzymatische Polymerisat des Poly-2,2,3,3-tetrafluorobutylcarbonats zeigte eine T_g von $-28,16\text{ °C}$ und eine T_m von $86,52\text{ °C}$. Der Vergleich mit Referenzwerten aus der Literatur ist herausfordernd, da dieses Polymer nicht beschrieben ist. Als Vergleich können die charakteristischen Kennzahlen T_g und T_m für ähnliche Fluorpolymere sowie fluorierte Polycarbonate herangezogen werden.

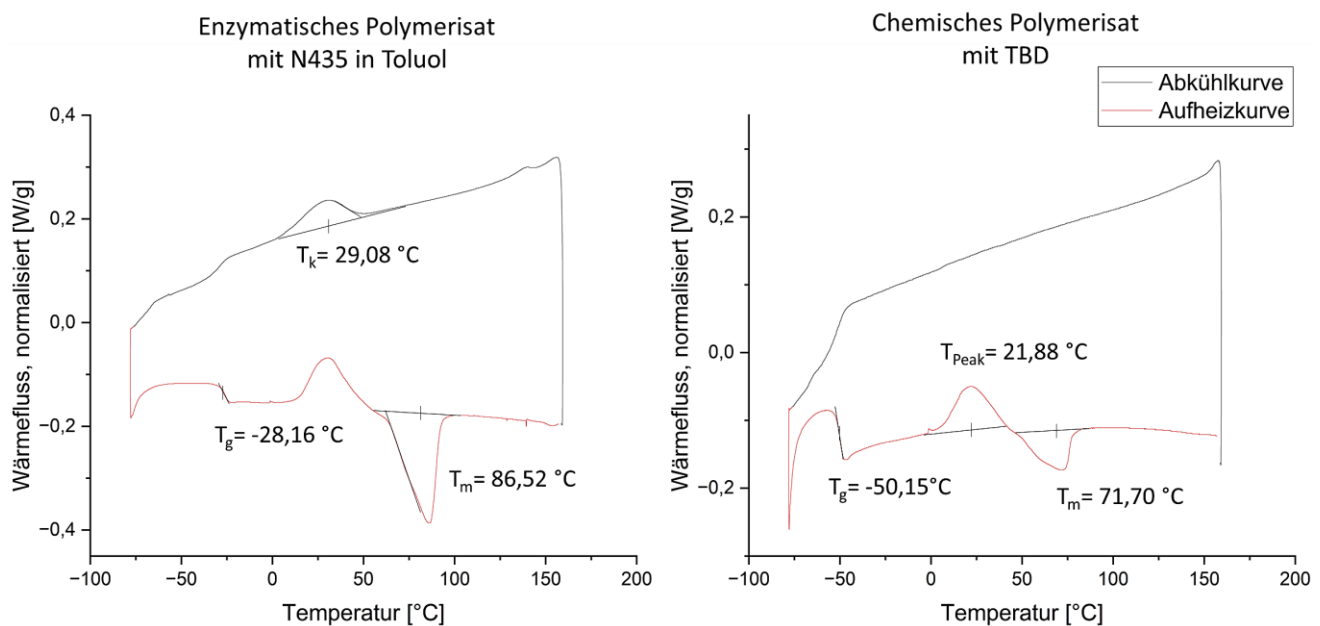


Abbildung 5-22: DSC Kurven der fluorierten Polymerisate 1-3 Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch N435 in Toluol (links) und chemisch synthetisiert durch TBD (rechts). Darstellung der Abkühlkurve und der Aufheizkurve mit den charakteristischen Kennzahlen T_g , T_k , T_m .

Die T_g von Fluoropolymeren variiert je nach Fluorierung und spezifischer Polymerstruktur. Für Fluoropolymere mit einem hohen Fluoranteil liegt die T_g oft im negativen Temperaturbereich, z.B. -100 °C für PTFE, 0 °C für Nafion™, -35 °C für Polyvinylidenfluorid (PVDF) (Mark 2007). Die niedrige T_g ist auf die hohe Elektronegativität und die Größe der Fluoratome zurückzuführen. Die sterische Hinderung der relativ großen Fluoratome verhindert eine enge Packungsdichte, was die Beweglichkeit der Polymerketten erhöht und die T_g senkt. Die hohe Elektronegativität von Fluor verschiebt die Bindungselektronen zum Fluor hin, erhöht die Polarität der Bindungen und begünstigt die Beweglichkeit der Kettensegmente. Die ermittelte T_g des Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat reiht sich in diese Literaturwerte für Fluoropolymere ein.

Im Gegensatz dazu, wird für ein fluoriertes Polycarbonat auf Basis von Bisphenol A eine T_g von 216 °C angegeben (Bendler et al. 2012). Dieses enthält zwei Fluoratome je Grundbaustein. Zudem ist Bisphenol A ringförmig und bildet damit ein strukturell sehr unterschiedliches Polymer als das Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat aus, was in verschiedenen thermischen Eigenschaften resultieren kann. Fluorierte Polycarbonate

sind meist amorph und haben keine definierte T_m . Das analysierte Poly-2,2,3,3-tetrafluorobutylcarbonat zeigte jedoch einen Schmelzpeak bei 86,52 °C und einen weiteren Peak bei 29,08 °C, was auf Teilkristallinität hindeutet. Teilkristalline Polymere wie PTFE, Nafion™ und PVDF haben definierte T_m von 385 °C, 250 °C und 178 °C (Mark 2007). Das analysierte Polymer ähnelt daher möglicherweise eher diesen teilkristallinen Fluorpolymeren als einem amorphen, fluorierten Bisphenol A-Polycarbonat.

Ein weiterer Peak in der Aufheizkurve könnte auf eine nachträgliche Kristallisation hinweisen, die beim Erwärmen stattfindet. Die Ursachen hierfür sind nicht abschließend geklärt, jedoch könnte das Lösungsmittel die Mikrostruktur des Polymers beeinflussen. Diese Hypothese wurde durch eine DSC-Messung eines enzymatischen Polymerisats mit N435 im Lösungsmittel HFIP unterstützt, bei der keine Nachkristallisation beobachtet wurde (vgl. Anhang Abbildung 0-5).

Die DSC-Messung des chemisch synthetisierten Polymerisats zeigte verschobene charakteristische Kennzahlen in niedrigere Temperaturbereiche, was auf eine kürzere Kettenlänge im Vergleich zum enzymatisch synthetisierten Polymerisat hinweist. Außerdem ist kein Kristallisationspeak zu erkennen. Beides deutet darauf hin, dass es sich eher um ein Dimer oder Oligomer handelt als um ein Polymer, was die SEC-Ergebnisse bestätigt.

Im Anschluss wurde das enzymatische Polymerisat mittels thermogravimetrischer Analyse (TGA) näher charakterisiert, um die Zersetzungstemperatur T_{deg} zu ermitteln. Wie in Abbildung 5-23 ersichtlich, zeigt die Massenabnahme der Probe eine deutliche Zunahme mit steigender Temperatur. Ab einem Masseverlust von 5 % kann von einer Zersetzung ausgegangen werden, wobei diese bei $T_{deg} = 203,69$ °C eintrat.

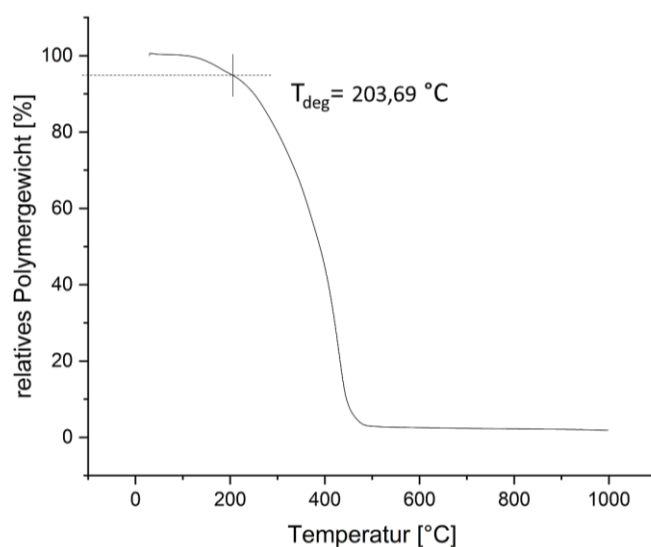


Abbildung 5-23: Thermogravimetrische Analyse des fluorierten Polymerisats 1-3 Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch N435 in HFIP.

Insgesamt deuten die DSC- und TGA-Ergebnisse darauf hin, dass ein enzymatisches fluoriertes Polymerisat erzeugt wurde, das in seinen thermischen Eigenschaften eher teilkristallinen Fluorpolymeren wie Nafion™, PTFE oder PVDF ähnelt. Die Polymereigenschaften müssen in weiteren Arbeiten tiefergehend untersucht werden.

Zweite Versuchsreihe

Die zweite Versuchsreihe diente dem Nachweis der Reproduzierbarkeit der Polymerisation. Im Rahmen dessen wurden Triplikate der enzymatischen Polymerisationen mit N435 durchgeführt. Im Unterschied zum ersten Ansatz wurde aufgrund von Materialknappheit eine Menge von 15 mg anstatt 50 mg Enzym verwendet. Zur Kontrolle wurden ein unbehandeltes Monomer, sowie ein mit den gleichen Parametern wie die Polymerisate jedoch ohne Enzym, untersucht (50 °C, 40 h, in Toluol). Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde für die Triplets sowie die Kontrollproben eine SEC durchgeführt. Abbildung 5-24 zeigt die normierten Intensitäten des UV-Signals in Abhängigkeit der Molmasse der Proben.

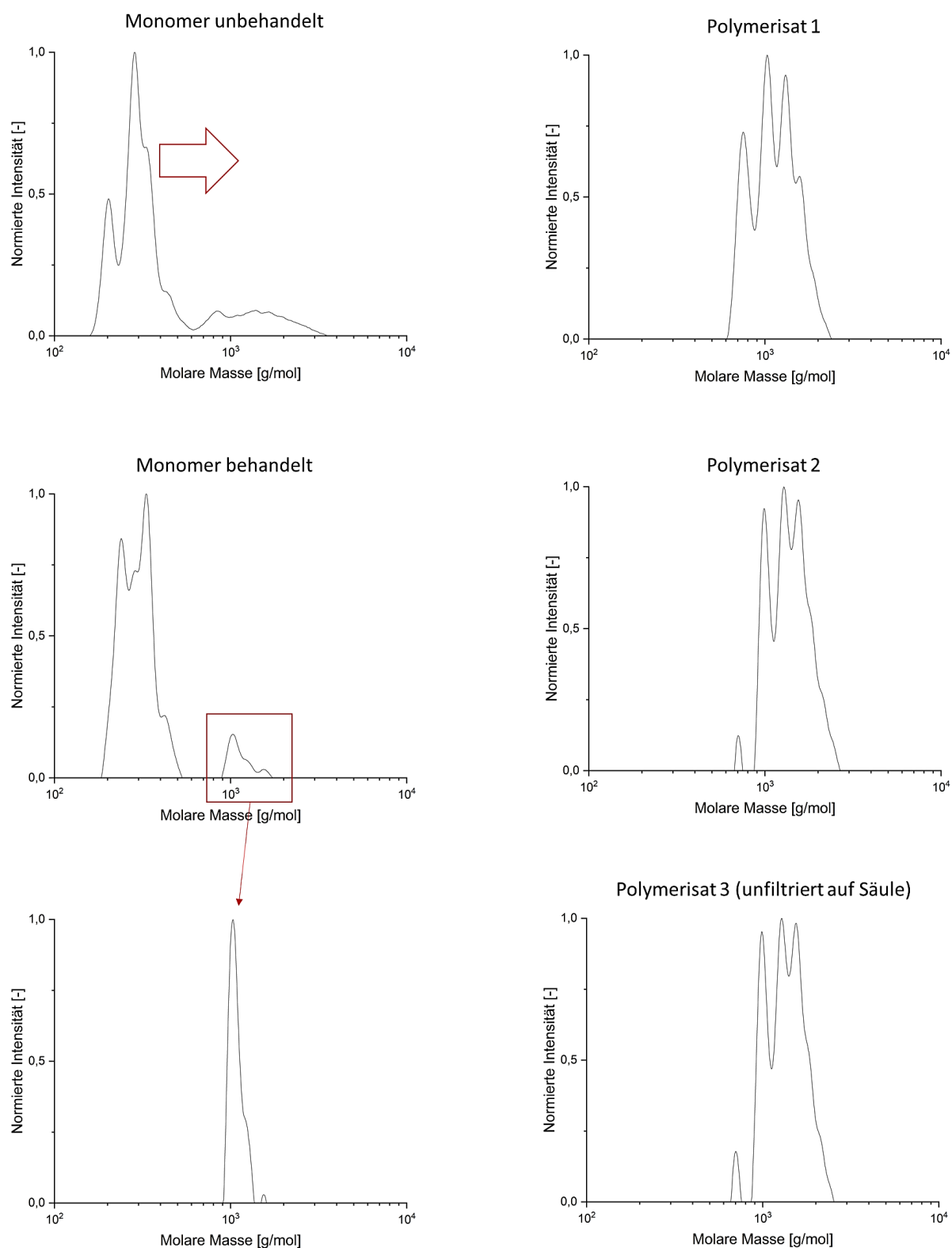


Abbildung 5-24: SEC-Chromatogramme. Darstellung der Molmassenverteilung des Monomers unbehandelt und behandelt, sowie der fluorierten Polymerisate 1-3 Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch N435 in Toluol im zweiten Ansatz.

Die Analyse der Kurvenverläufe des Monomers, sowohl in unbehandeltem als auch in behandeltem Zustand, zeigte keine signifikanten Unterschiede. Eine Temperatureinwirkung von 50 °C über einen Zeitraum von 40 Stunden übte somit keinen signifikanten Einfluss auf das Monomer aus. Beim unbehandelten Monomer lag eine hohe Polydispersität (*PDI* bis 1,54) vor. Es lag nicht lediglich eine Fraktion des Monomers vor. Aufgrund der Ringspannung und der hohen Polarität kann davon ausgegangen werden, dass es zu einer Bildung von Oligomeren gekommen ist (>1000 g/mol). Ein weiterer Grund für die hohe Polydispersität könnte in einer anteiligen Agglomeration der Fluoromonomere liegen.

Die weiteren Chromatogramme zeigen jeweils den Ausschnitt der höhermolekularen, polymeren Fraktion. Ein Vergleich der Kurvenverläufe des behandelten Monomers mit den Polymerisaten zeigte eindeutig eine Verschiebung des Peaks in höhere Molmassenbereiche. Dies wird durch die ermittelten gewichtsmittleren und zahlenmittleren Molmassen bestätigt. Die Kurvenverläufe der Polymerisate sind multimodal und sprechen für unterschiedlich wachsende Polymerspezien mit enger Molekulargewichtsverteilung (siehe Tabelle 5-2). Dies lässt den Schluss zu, dass mehrere Fraktionen mit einer geringen Anzahl an Molekülen pro Fraktion vorlagen.

Tabelle 5-2: Molmassen und Polydispersitätsindex (PDI) der Polymerisate und Kontrollen.

Probe	Zahlenmittlere Molmasse M_n [g/mol]	Gewichtsmittlere Molmasse M_w [g/mol]	Polydispersitäts- index PDI [-]
Monomer unbehandelt	323	499	1,54
Monomer behandelt (gesamt)	303	362	1,08
Monomer behandelt (zweiter Peak)	1070	1080	1,01
Polymerisat 1	1070	1170	1,09
Polymerisat 2	1320	1410	1,07
Polymerisat 3	1290	1370	1,06

In Gegensatz zur ersten Versuchsreihe konnten lediglich geringfügige Molmassen im Bereich >2000 g/mol nachgewiesen werden. Die Ursache für die Diskrepanz zwischen der ersten und zweiten Versuchsreihe könnte auf der unterschiedlichen Enzymkonzentration sowie der schlechten Löslichkeit des Polymers im SEC Eluent beruhen und der damit zusammenhängenden unterschiedlichen Probenvorbereitung. In der ersten Ver-

suchsreihe wurde zur Erhöhung der Löslichkeit des erhaltenen Feststoffs eine Behandlung bei 50 °C für 16 h im Eluent THF durchgeführt, bevor die SEC folgte. Eine mögliche Folge dessen ist eine leichte Erhöhung der Löslichkeit, was zu höheren Molekulargewichten als im zweiten Ansatz führte. Kredel bestätigt die geringe Löslichkeit von höhermolekularen fluorierten Polymeren (2021). Es ist daher anzunehmen, dass lediglich ein geringer Anteil, der löslichen Substanz, mittels Chromatographie analysiert werden konnte. Der unlösliche Großteil des Polymerisats ist wahrscheinlich bei der Filtration vor der Chromatographie zurückgeblieben. Es wurde der Versuch unternommen, das Polymerisat unfiltriert auf die Säule zu geben (Polymerisat 3), was keine signifikante Veränderung des Chromatogramms zeigte. Der höhermolekulare Anteil des Polymerisats ist womöglich auf der Vorsäule des Chromatographie-Systems zurückgeblieben.

Fazit: Die durchgeführten Experimente führten zur Gewinnung von Feststoffen aus der enzymatischen Polymerisation des Monomers 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on durch N435. Im höhermolekularen Bereich (Molekulargewicht > 2000 g/mol) ließ sich in beiden Ansätzen eine Polymerbildung nachweisen, wobei der erste Ansatz aufgrund einer zusätzlichen Behandlung zur besseren Löslichkeit des Feststoffs zu höheren Ausbeuten (Molmassen bis zu 4.000 g/mol) führte. Die Detektion des Polymerisats in der SEC erwies sich durch die schlechte Löslichkeit des Polymerisats als herausfordernd, da lediglich der lösliche Teil in der SEC messbar ist. In Konsequenz lässt sich mittels SEC nur eine Vermutung über die Molmassen der Polymerisate anstellen. Die DSC-Analysen stützen die Ergebnisse der SEC-Messungen. Weitere, detaillierte Analysen zur Charakterisierung des Monomers und Polymers sind erforderlich. Im Folgenden wurde eine Evaluierung des erhaltenen Polymers hinsichtlich seiner Eignung als Füllstoff für die NafionTM Membran vorgenommen.

5.3.4 Polymerisation eines fluorierten Carbonats mittels immobilisierter CRL an NafionTM Membranen

Im Anschluss an die Untersuchungen zur Polymerisation mit N435 sollte die Polymerisation mit Enzymen, welche an die Membran immobilisiert sind, demonstriert werden und die Ab- bzw. Einlagerung des Polymers in die Membran untersucht werden.

Als Enzym für diese Untersuchungen wurde das zuvor charakterisierte Enzym Lipase aus *Candida rugosa* verwendet. Zur Demonstration des Effekts einer erfolgreich durch-

geführten Polymerisation wurde die aktivste kommerziell erhältliche Form der CRL gemäß Anhang A.1 verwendet. Darüber hinaus wurde die Enzymkonzentration in der Präparation der Immobilisate von 2 g/L auf 20 g/L erhöht, um die Messbarkeit der Polymerisation zu gewährleisten. Die Immobilisierung der CRL an die NafionTM Membran erfolgte unter Verwendung des F-Rhodamin-Linkers (vgl. Kapitel 5.2.2). Für jeden Prozessschritt der Immobilisierung wurde eine Probe für die Analytik präpariert: die reine Membran, die Membran mit F-Rhodamin-Linker (F-Tag), sowie die Membran mit F-Tag und Enzymimmobilisat. Für die Polymerisation mit Enzymimmobilisat wurden zwei weitere Proben hergestellt und die Polymerisation durch Monomerzugabe durchgeführt. Als Kontrolle diente eine NafionTM Membran mit F-Rhodamin-Linker ohne Enzym und Monomerzugabe. Die Kontrollprobe sollte kein Polymer bilden. Nach Abschluss der Polymerisation erfolgte eine Untersuchung aller Membranen per Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometrie (ToF-SIMS), um eine mögliche Ablagerung des Polymers auf / in der Membran zu ermitteln. Eine detaillierte Beschreibung der experimentellen Durchführung sowie der analytischen Methoden ist in Anhang B.10 und C.6 zu finden.

Oberflächen- und Tiefenprofilmessungen der Proben wurden mittels ToF-SIMS durchgeführt. Zunächst wurde die Oberfläche der Proben auf das Vorhandensein von charakteristischen Ionen untersucht. Über ein 500×500 µm großes Sichtfeld wurden 128×128 Datenpunkte aufgenommen. Auf Basis der vorliegenden Datensätze konnten die chemischen Zuordnungen für vier charakteristischen Ionen ermittelt werden: F⁻, SO₂⁻, CN⁻ und C₂HF₄⁻. Die Ionen F⁻ und SO₂⁻ sind Bestandteil der NafionTM Membran. Der F-Rhodamin-Linker enthält ebenfalls Fluor Atome sowie zwei CN-Bindungen. Charakteristisch für das Enzym sind eine Vielzahl an CN- Bindungen. Das charakteristische Ion des Polymers ist C₂HF₄⁻. Die Zuordnung ist in Abbildung 5-25 dargestellt. Bei hoher Intensität des Ions auf der Probenoberfläche erscheint das Spektrum gelb. Ist das Ion nicht oder nur schwach vorhanden, erscheint das Spektrum schwarz.

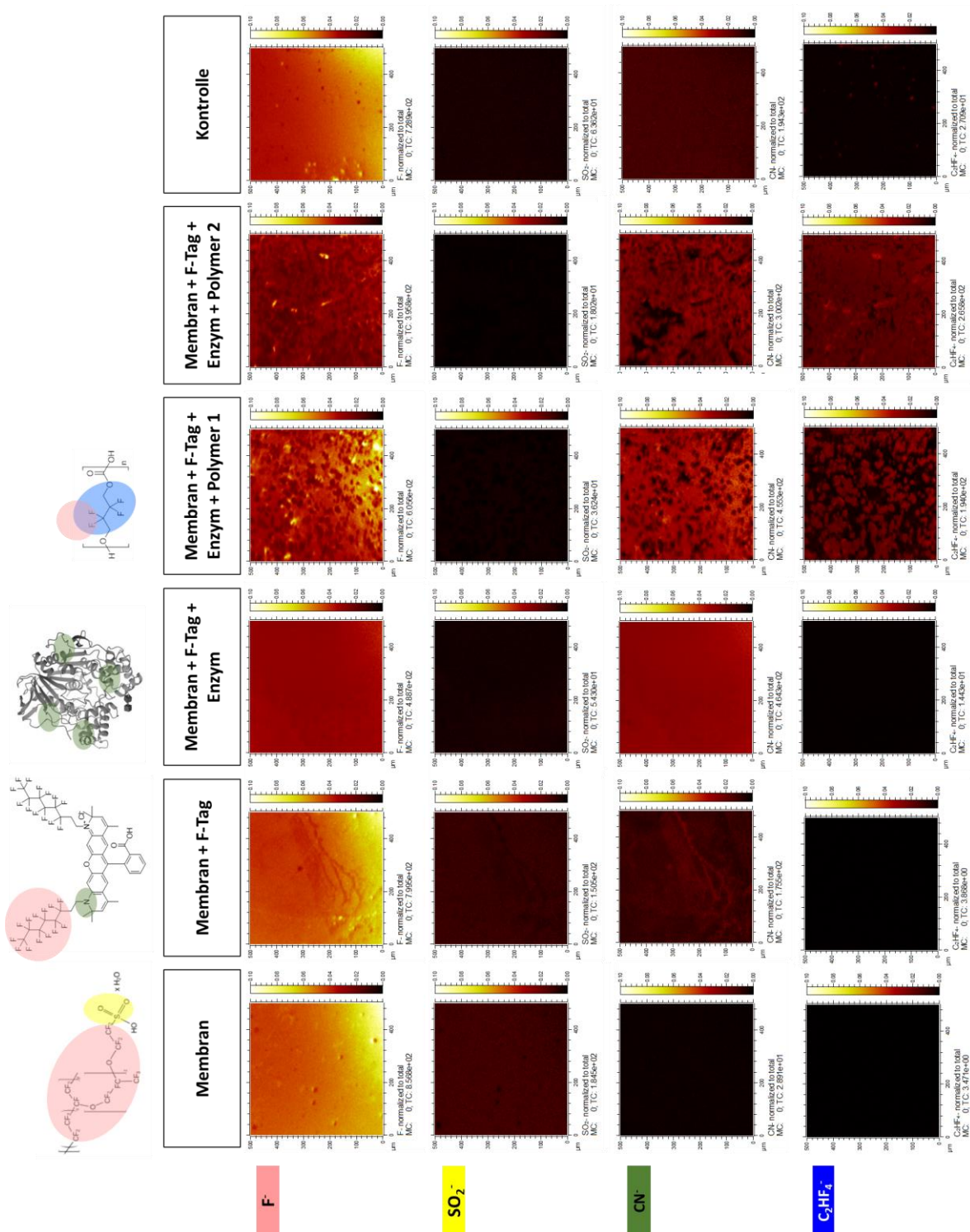


Abbildung 5-25: Spektren der Oberflächenmessungen der Proben mittels ToF-SIMS für die einzelnen Schritte der Enzymimmobilisierung und der Polymerisation für vier charakteristische Ionen. Bild Enzym (Grochulski & Cygler 1994)

Die vier ausgewählten charakteristischen Ionen konnten in den jeweiligen Proben in Übereinstimmung mit der Theorie nachgewiesen werden. Die Kontrollprobe erschien wie erwartet und zeigte die gleichen Spektren wie die Membran + F-Tag. Mit jedem weiteren Prozessschritt (von links nach rechts) ist eine Überlagerung der Intensitäten zu erkennen. Beispielsweise werden die Bilder des F^- Ions und des SO_2^- Ions dunkler, sobald das Enzym auf der Membran immobilisiert ist. Das Enzym bedeckt nun einen großen Teil der Membranoberfläche und schwächt die für die Membran charakteristischen Signale ab.

Das charakteristische Ion des Polymers $C_2HF_4^-$ konnte für beide Proben nachgewiesen werden: Membran + F-Tag + Enzym + Polymer 1 und 2. Beide Spektren zeigen eine erhöhte Intensität des $C_2HF_4^-$ Fragments. Dies demonstriert die erfolgreiche Polymerbildung durch immobilisierte Enzyme auf der NafionTM Membran. Eine mikrostrukturelle Aufnahme der Probenoberfläche zeigt, dass es sich hierbei um eine punktförmige Ablagerung des Polymers auf der Membran handelt. Die Membran weist in ihrer Oberfläche Poren von bis zu 50 μm auf, die jedoch von Beginn an vorhanden waren (siehe Abbildung 5-26). Das Polymer könnte sich in den Poren abgelagert haben.

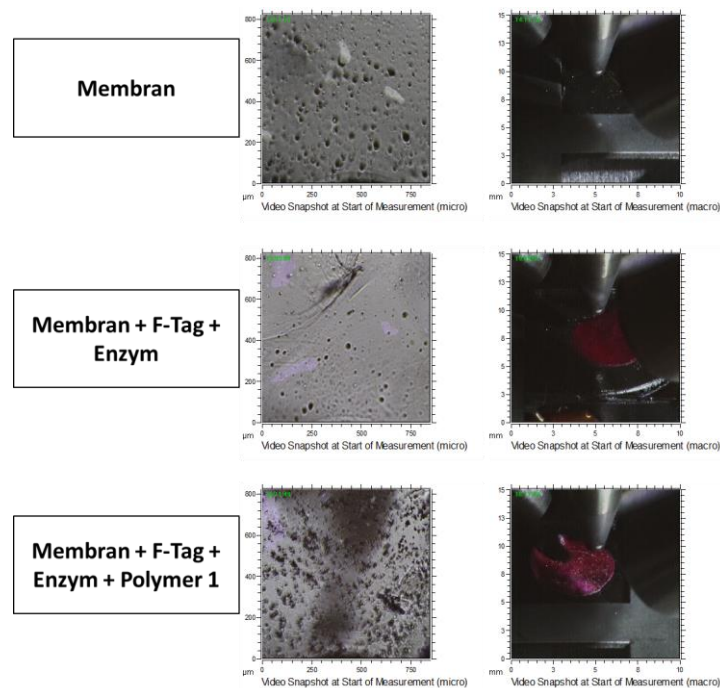


Abbildung 5-26: Kameraaufnahmen der Mikro- (800 x 800 μm) und Makrostruktur (15 x 10 mm) der Membran, der Membran mit F-Tag und immobilisiertem Enzym, sowie der Polymerbildung durch das Enzymimmobilisat auf der Membran.

Eine detaillierte Analyse der Polymeran- bzw. -ablagerung auf der Membran erfolgte anschließend durch Tiefenprofilierung. Analog zur Oberflächenmessung wurden 128×128 Datenpunkte über ein 500×500 µm großes Sichtfeld aufgenommen. Auf Basis der vorliegenden Datensätze konnten die chemischen Zuordnungen für die vier charakteristischen Ionen ermittelt werden. Aus den ermittelten Daten wurden für die gleichen Proben wie bei der Oberflächenmessung die in Abbildung 5-27 dargestellten Farbwürfel erstellt. Die Würfel zeigen zum einen die Überlagerung der Signale aller vier Ionen und zum anderen das singuläre Signal für das C_2HF_4^- Ion, das charakteristisch für das gebildete Polymer ist.

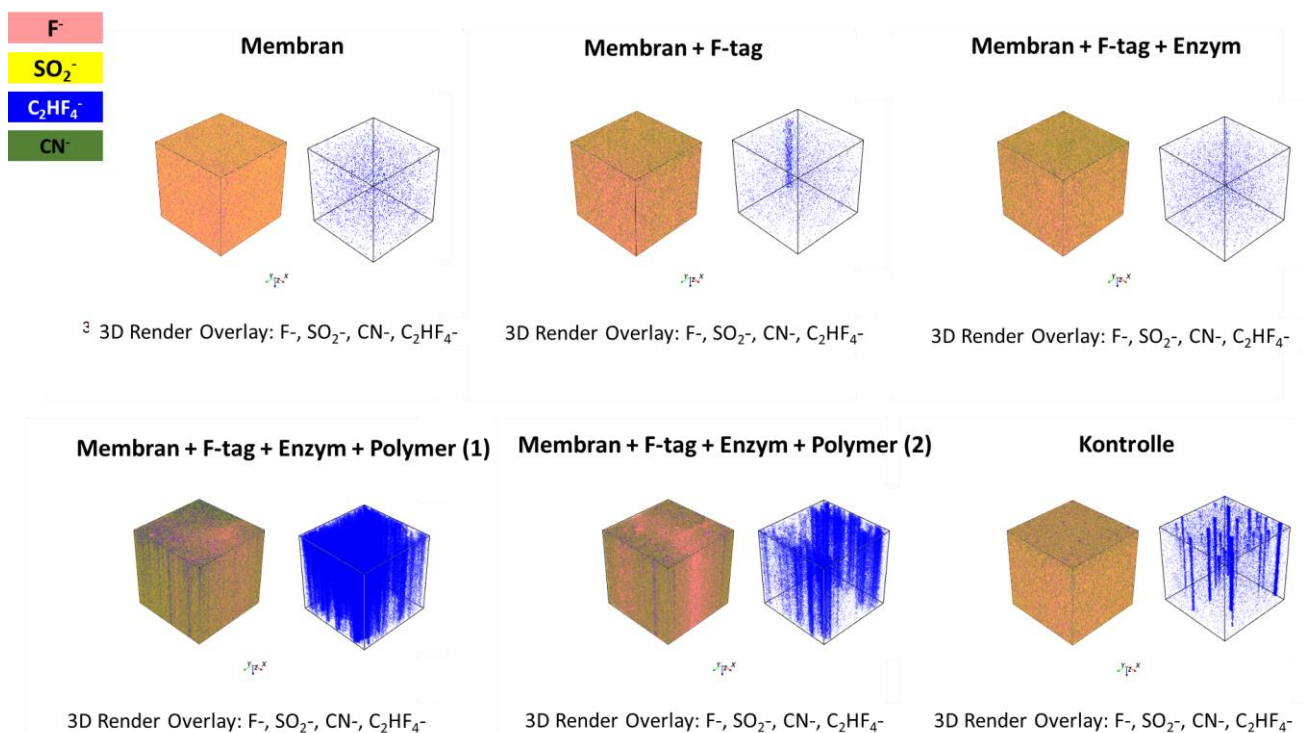


Abbildung 5-27: Tiefenprofil der Proben mittels ToF-SIMS für die einzelnen Schritte der Enzymimmobilisierung und der Polymerisation für vier charakteristische Ionen. Jeweils links: Overlay aller Ionen, jeweils rechts: C_2HF_4^- Ion.

Die Ergebnisse der Tiefenprofilierung bestätigen die Ergebnisse der Oberflächenmessungen und zeigen das Vorhandensein der gleichen Ionen für die jeweiligen Proben. Darüber hinaus zeigt die Tiefenprofilierung deutlich die Ablagerung des enzymatisch gebildeten Polymers in den Poren der Membran. Die erfolgreiche Ablagerung des enzymatisch synthetisierten Polymers durch auf der Membran immobilisierte Enzyme

konnte nachgewiesen werden. Die Ablagerung erfolgte bevorzugt in den Poren der Membran. Ein Füllstoff, der an der Membran haftet, wurde erfolgreich hergestellt. Als nächster Schritt muss die Fähigkeit des Füllstoffes, Pinholes unterschiedlicher Größe zu verschließen, nachgewiesen werden. Dazu wurde in Kapitel 5.4 eine Methode entwickelt.

5.3.5 Fazit

Folgende Schlussfolgerungen ergeben sich aus den Untersuchungen:

- Ein **fluoriertes cyclisches Carbonatmonomer** 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-Dioxepan-2-on wurde **synthetisiert** und mittels NMR und SEC nachgewiesen.
- Es konnte gezeigt werden, dass aus dem cyclischen Carbonatmonomer **mittels Lipase (N435) das fluorierte Polymer Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat katalysiert** werden kann. In allen Versuchen wurde ein Feststoff gebildet. Das Polymer wurde durch eine Kombination der analytischen Methoden SEC, DSC und TGA nachgewiesen. Mittels SEC konnte nur der lösliche niedermolekulare Anteil des Polymerisats bestimmt werden, wobei die zahlenmittleren Molmassen zwischen 1070 g/mol und 3030 g/mol variierten. Die tatsächlichen Molmassen des Polymerisats, einschließlich derer im höhermolekularen Bereich, konnten aufgrund der geringen Löslichkeit des Polymerisats mittels SEC nicht bestimmt werden. Die Abkühl- und Aufheizkurven der DSC zeigten charakteristische Verläufe für teilkristalline Fluoropolymere untermauern die erfolgreiche Bildung eines fluorierten Polymers.
- Die **enzymatische Synthese des Polymers ist neu**. Die Ergebnisse leisten somit einen Beitrag zur Grundlagenforschung. Weitere Untersuchungen zur Charakterisierung sollen folgen.
- Das **enzymatisch hergestellte Polymer war einem chemisch katalysierten Polymer** mit einer zahlenmittleren Molmasse von 1030 g/mol **überlegen**.
- Die **erfolgreiche enzymatische Polymerisation von fluoriertem Polycarbonat mit auf der NafionTM Membran immobilisierten Enzymen** wurde demonstriert. Die CRL wurde mittels F-Rhodamin-Linker auf der Membran immobilisiert und die Polymerisation durch Zugabe des Monomers 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-Dioxepan-2-on durchgeführt. Die Polymerbildung konnte durch Oberflächenmessungen und Tiefenprofilierung der Membranen mittels ToF-SIMS nachgewiesen werden. Als charakteristisches Ion für den Nachweis des fluorierten Carbonatpolymers wurde $C_2HF_4^-$ bestimmt.

- Die **erfolgreiche Anlagerung des Füllstoffs der Nafion™ Membran** konnte gezeigt werden. Die Spektren der Tiefenprofilierung zeigten die Anreicherung des charakteristischen Ions C_2HF_4^- auf der Membranoberfläche und insbesondere in vorhandenen Poren der Membran.

Zukünftige Perspektiven:

- **Weitere Charakterisierung des Polymers.** Der Füllstoff soll hinsichtlich relevanter Eigenschaften wie Säurelabilität, Protonenleitfähigkeit mittels Impedanzspektroskopie und mechanischer Eigenschaften mittels Rheometrie weiter charakterisiert werden.
- **MALDI-TOF** könnte als **weitere Nachweismethode des Polymers** getestet werden.
- **Alternative Fluormonomere und Lösungsmittel** können getestet werden.

5.4 Methodenentwicklung zur Analyse des Selbstheilungseffektes

Zuletzt wurde ein Testsystem aufgebaut, um den Selbstheilungsmechanismus einer Membran quantitativ durch Dichtigkeitsprüfung zu demonstrieren. In Kapitel 5.4.1 wurde eine Methode zur Herstellung und Analyse von künstlichen Pinholes entwickelt und in Kapitel 5.4.2 eine Methode zur Detektion des Wasserstoffdurchtritts. Diese Methode eignet sich für den Nachweis des enzymatischen Selbstheilungseffektes und wurde durch Einspannen von Membranen mit verschiedenen Pinhole-Größen auf ihre Eignung überprüft. Die Methode ist das Ergebnis der von der Autorin dieser Arbeit betreuten Abschlussarbeit (A_Schwarzer 2023).

5.4.1 Methode zur Herstellung und Analyse künstlicher Pinholes

Es wurde eine Methode etabliert, um Membranen gezielt zu perforieren und Löcher definierter Größe im Bereich von wenigen bis einigen hundert Mikrometern zu erzeugen. Die Untersuchung der künstlichen Pinholes vor und nach dem enzymatischen Selbstheilungsprozess ermöglicht die Bewertung der Wirksamkeit der Heilung. Dies soll durch eine Verkleinerung der Lochgröße oder eine vollständige Füllung des Pinholes erkennbar sein.

Die Erzeugung von künstlichen Pinholes kann durch verschiedene Mechanismen erfolgen, wie Elektronenstrahlolithographie, fokussierter Ionenstrahl und Mikronadeln. In der vorliegenden Arbeit wurden künstliche Pinholes mithilfe von Mikronadeln erzeugt (Kreitmeier et al. 2013). Für die Erzeugung kleiner Pinholes wurde lediglich die Nadelspitze verwendet, um die Membran zu durchstechen. Es wurden auch Pinholes erstellt, bei denen die gesamte Dicke der Nadel verwendet wurde. Zur Identifizierung und Charakterisierung der Defekte wurden ein Digitalmikroskop und ein Oberflächenprofilometer eingesetzt (vgl. Abbildung 5-28).

Beide Analysemethoden bestätigten die reproduzierbare Herstellung und Messung der künstlich erzeugten Pinholes. Das Digitalmikroskop ermittelte beispielsweise eine Lochgröße von $21,0 \mu\text{m} \pm 1,35 \mu\text{m}$, während das Oberflächenprofilometer für dasselbe Pinhole eine Größe von $21,10 \mu\text{m} \pm 0,92 \mu\text{m}$ ergab. Bei der Auswertung wurde darauf geachtet, die tatsächliche Größe der Pinholes zu erfassen, da die unmittelbare Umgebung der Löcher durch die Nadelperforation deformiert wird. Die Standardabweichungen der Messungen wurden auf die nicht exakt runde Form der Pinholes zurückgeführt.

Mithilfe dieser Methoden konnten Pinholes mit einer Größe zwischen 10 μm und 450 μm hergestellt und charakterisiert werden. Es ist bekannt, dass Pinholes mit einem geringen Anfangsdurchmesser auf mehrere hundert Mikrometer anwachsen können. Um die Bildung kleiner Pinholes zu verhindern, ist es notwendig, diese unmittelbar nach der Entstehung durch das enzymatisch katalysierte fluorierte Polymer zu verschließen. Im weiteren Verlauf können die aufgeführten Analysemethoden zur Untersuchung des Heilungsprozesses von realitätsnahen Pinholes genutzt werden.

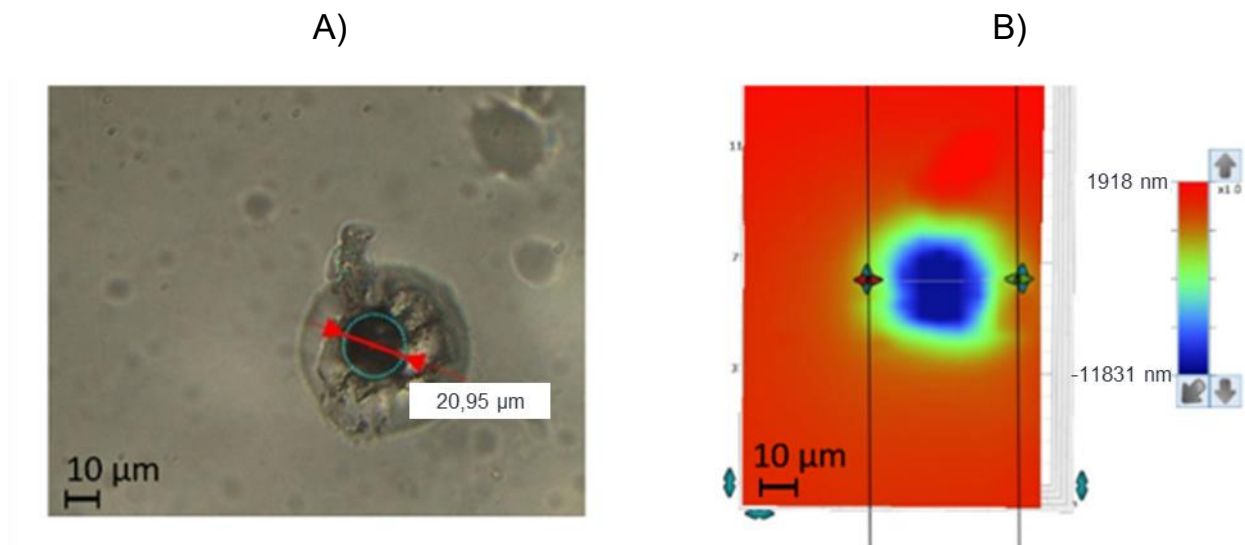


Abbildung 5-28: Untersuchung der künstlich eingebrachten Pinholes in NafionTM Membranen mittels Digitalmikroskop (A) und Oberflächenprofilometer (B) (Gartner et al. 2023a).

5.4.2 Aufbau zur Bestimmung der Dichtigkeit von NafionTM Membranen

Um die Eignung der Polymere als Füllstoff zur Verschließung der Pinholes zu bewerten, wurde eine Methode entwickelt, die den Wasserstoffdurchtritt durch die Pinholes misst. Dazu wurde die Membran in einen Filterhalter eingespannt und für verschiedene Zeiträume einem definierten H₂-Volumenstrom ausgesetzt (siehe Abbildung 5-29). Der H₂-Gehalt wurde gaschromatographisch quantifiziert, indem Proben zu verschiedenen Zeitpunkten aus einer zuvor mit Inertgas gefüllten Septumflasche mittels einer Spritze entnommen wurden. Somit kann die Durchlässigkeit mit der Lochgröße korreliert werden. Dies ermöglicht langfristig eine quantitative Kontrolle des Lochverschlusses durch den enzymatisch produzierten Füllstoff.

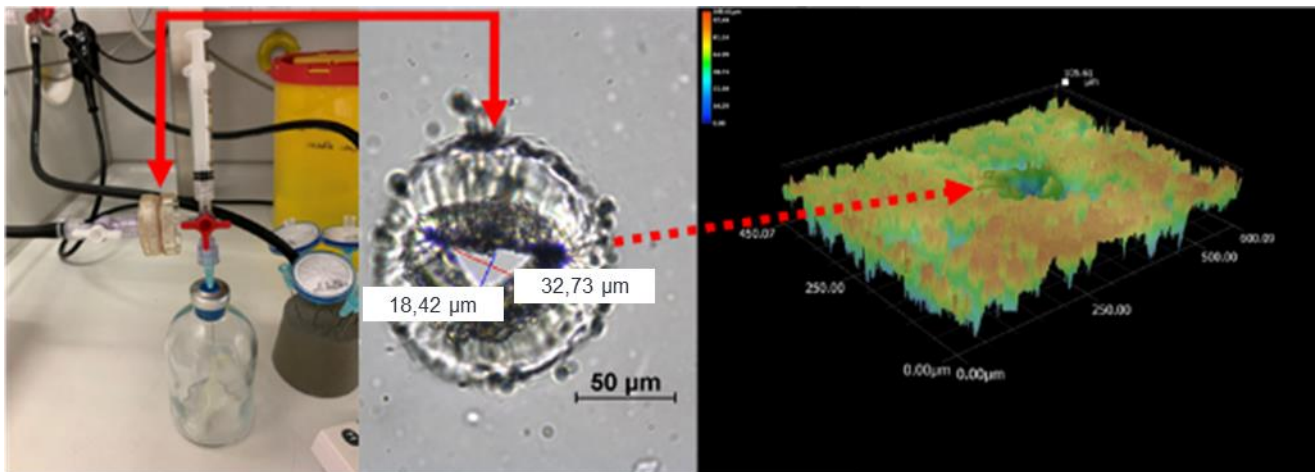


Abbildung 5-29: Aufbau zur Untersuchung der H₂- Durchlässigkeit der Nafion™ Membranen mit Pinholes definierter Größe.

Um die Anwendbarkeit des beschriebenen Aufbaus zu überprüfen, wurden verschiedene Pinhole-Größen untersucht (siehe Abbildung 5-30). Es ist deutlich erkennbar, dass größere Pinholes (1 & 2) im Vergleich zu kleineren Pinholes (3 & 4) größere Mengen Wasserstoffdurchfluss aufwiesen. Die angegebenen Durchmesser beziehen sich auf den größtmöglichen mikroskopisch detektierten Durchmesser der Pinholes. Aufgrund der unterschiedlichen Formen der Pinholes bedeutet der größte Durchmesser jedoch nicht zwangsläufig die größte Fläche.

Wie erwartet, wurde bei direkter Begasung mit 0,33 mmol die höchste Menge Wasserstoff festgestellt. Der Unterschied zur größten Wasserstoffmenge durch ein größeres Pinhole beträgt jedoch nur 0,07 mmol. Daher ist es nur bis zu einer bestimmten Pinhole-Größe möglich, den Unterschied zwischen einem Pinhole und der direkten, maximal möglichen Begasung mit Wasserstoff festzustellen. Dies muss in weiteren Versuchen genauer untersucht werden. Die größte Wasserstoff-Stoffmenge eines Pinholes mit einem maximalen Durchmesser von 355 µm ist 2,8-mal größer als die kleinste festgestellte Wasserstoff-Stoffmenge mit einem maximalen Durchmesser von 43 µm. Die Annahme, dass auch ein anteiliger Wiederverschluss der Pinholes durch dieses System nachweisbar wäre, lässt sich durch die Korrelation des Pinhole Durchmessers mit dem Wasserstoff-Durchfluss bestätigen.

Zudem konnte durch die verwendete Methode gezeigt werden, dass bei der Begasung einer unbeschädigten Nafion™ Membran kein Wasserstoff nachgewiesen werden

konnte. Daher kann als plausibel angenommen werden, dass der festgestellte Wasserstoff ausschließlich durch die erstellten Pinholes in die verschlossene Septumflasche gelangt ist.

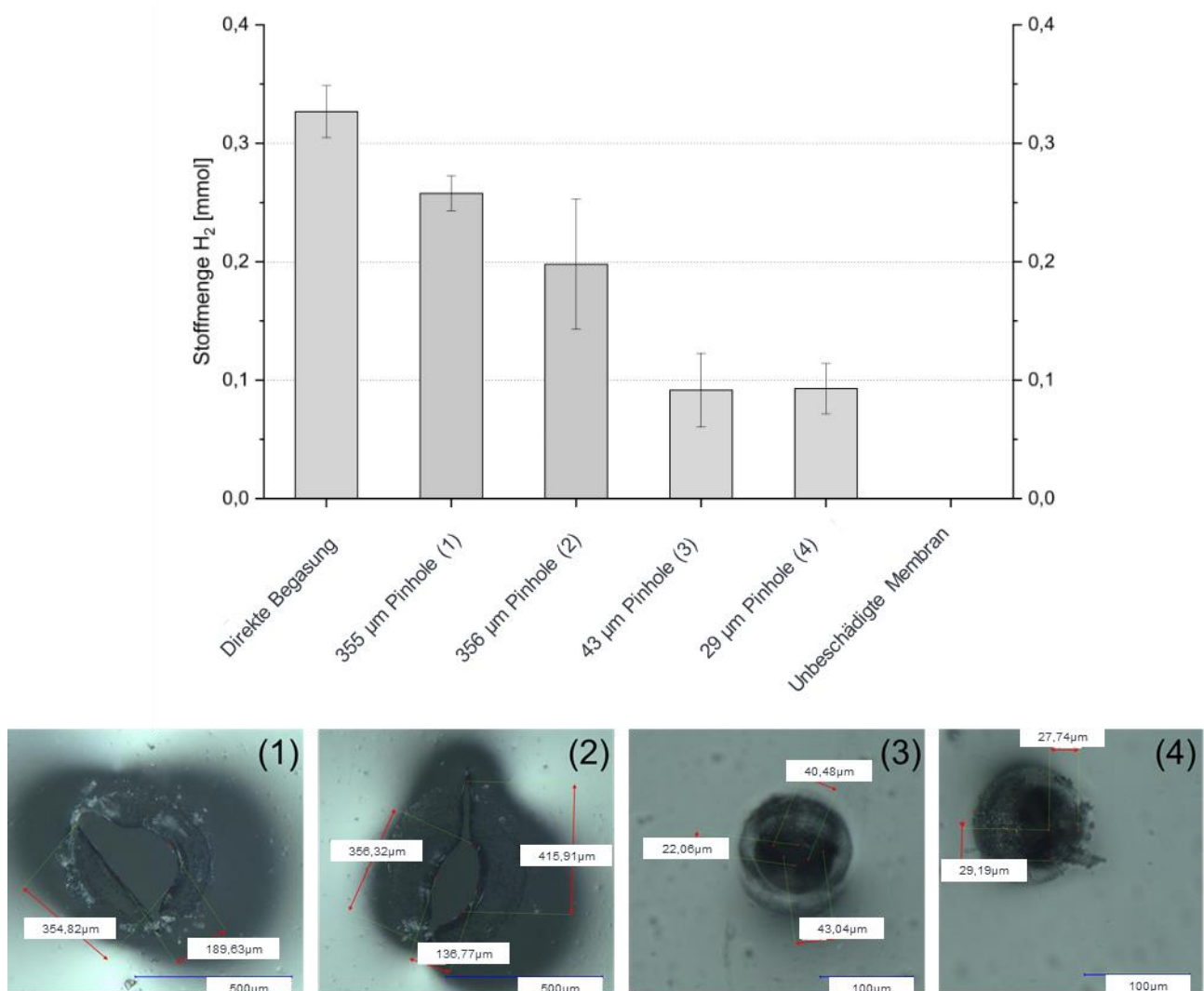


Abbildung 5-30: Stoffmenge des durch die Membran durchgelassen Wasserstoffs für verschiedene Pinholegrößen (A_Schwarzer 2023).

5.4.3 Fazit

Folgende Schlussfolgerungen ergeben sich im Detail aus den Untersuchungen:

- **Künstliche Pinholes** können in einem definierten Durchmesser erzeugt und vermessen werden.
- **Ein Testsystem zur Überprüfung des enzymatischen Selbstheilungseffekts wurde aufgebaut und validiert.** Es beruht auf der Messung der Permeabilität von Wasserstoff durch die Pinholes der Membran. Die Wasserstoff-Stoffmenge korreliert mit der Pinhole-Größe.

Zukünftige Perspektiven:

- **Einsatz des Testsystems zur Testung des Selbstheilungseffektes.**
- **Verschluss verschiedener Pinhole Größen** zeigen
- Die langfristige **Haftung des erzeugten Polymers** an der Membran für den aufgetragenen Wasserstoffvolumenstrom soll überprüft werden. Dabei ist sicherzustellen, dass das Polymer die Membran möglichst vollständig und gasdicht verschließt. Weitere Untersuchungen sollten vergleichend die Wasserstoffmenge vor und nach einer Polymerisationsreaktion berücksichtigen und die Nachweisgrenze in Bezug auf das größte und kleinste detektierbare Pinhole einschließen. Das Testsystem kann verwendet werden, um die Stärke der fluorophilen Wechselwirkung zwischen Füllstoff und Membran in Abhängigkeit des Wasserstoffvolumenstroms zu bestimmen.
- An das Testsystem kann direkt der Gaschromatograph angeschlossen werden, um den **Selbstheilungseffekt in Echtzeit zu quantifizieren**. Dadurch würden weitere Optimierungen des Verfahrens erleichtert, insbesondere in Bezug auf die Messung der Aktivität optimierter Enzyme, die Stabilität der Immobilisate und die Produktion alternativer Füllstoffe.
- **Alternative Wasserstoffnachweissysteme** im Hinblick auf die Sensitivität des Wasserstoffnachweises können getestet und validiert werden.

6 Kritische Würdigung und Ausblick

In dieser Arbeit wird ein neuartiger Selbstheilungsmechanismus vorgestellt, der auf der Aktivität von füllstoffbildenden Enzymen beruht um Pinholes in den Polymerelektrolytmembranen von PEMFCs zu verschließen. Das Hauptziel bestand darin, den Mechanismus zu konzipieren. Darüber hinaus wurden initial experimentelle Studien durchgeführt, um die Machbarkeit dieses Selbstheilungsansatzes zu überprüfen und kritische Parameter aufzuzeigen. Der Selbstheilungsansatz sowie die experimentellen Ergebnisse werden im Folgenden bewertet. Abschließend wird ein Ausblick auf zukünftige Arbeiten gegeben.

6.1 Kritische Würdigung

Die zentrale Forschungsfrage befasste sich mit der Ausgestaltung eines Selbstheilungsmechanismus für PEM. Mittels CD&E Vorgehensweise wurde auf Basis der Grundlagen ein theoretisches Konzept für einen solchen Selbstheilungsmechanismus aufgestellt, der drei anderen Alternativen gegenübergestellt und initial als der sinnvollste Ansatz bewertet wurde. Es wurden anschließend experimentelle Zielstellungen abgeleitet, um das Konzept in mehreren Phasen zu überprüfen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die erste Phase bearbeitet. Die Erfüllung der Anforderungen soll nun in einem Zwischenstand nach Abschluss der ersten Phase bewertet werden.

Tabelle 6-1 reflektiert anhand der gestellten Anforderungen den aktuellen Stand der Erfüllung der Kriterien und listet identifizierte kritische Parameter und Arbeitsfelder.

Tabelle 6-1: Bewertung der Erfüllung der Anforderungen an den Ansatz nach aktuellem Stand der Arbeiten.

	Anwendung in PEMFC	Effektiv gegen Defekte	Geringfügige Beeinträchtigung der Funktionalität der Anwendung	Geringfügige Modifikation der Membran /des Materials	Mehrfachanwendung der Selbstheilung
Bewertung zum Ende Phase I	●	●	◐	●	●
Identifizierte kritische Parameter / zukünftige Arbeitsfelder	<ul style="list-style-type: none"> - Temperaturstabilität der Enzyme muss optimiert und in Langzeitstudien demonstriert werden - Entsprechende Enzymauswahl zu treffen 	<ul style="list-style-type: none"> - Reproduzierbarkeit der enzymatischen Polymerisation fluorierter Füllstoffe zeigen - Einsatz des Testsystems zur Testung des Selbstheilungseffektes - Langzeitverschluss verschiedener Pinhole Größen zeigen 	<ul style="list-style-type: none"> - Enzymbeladung der Membran auslegen - Clogging überprüfen - Protonenleitfähigkeit des Füllstoffs testen 	<ul style="list-style-type: none"> - Langzeitstabilität der Enzymimmobilisierung prüfen 	<ul style="list-style-type: none"> - Enzymaktivität in wechselnden Betriebs- und Selbstheilungszyklen zeigen
Erfolgreich / Erkenntnisse	<ul style="list-style-type: none"> - Identifizierung der kritischen Parameter für Enzymstabilität & -aktivität erfolgt - pH-Wert und H₂ / O₂ Gasatmosphären sind unkritisch - Enzymimmobilisierung verbessert Stabilität bei PEMFC Bedingungen 	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung von Enzymen auf NafionTM per Fluorophilie erfolgt (1.Schritt) - Enzymatische Polymerisationen eines fluorierten Carbonatmonomers durch N435 und durch immobilisierte CRL auf NafionTM erfolgt (2.Schritt) - Anlagerung des Polymerisats an NafionTM gezeigt (3.Schritt) - Aufbau eines Testsystems und Methodenentwicklung erfolgt 	<ul style="list-style-type: none"> - Selbstheilungsmechanismus so ausgelegt, dass Gasdichtigkeit als eine Funktion der Membran wiederhergestellt ist 	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilisierung an Membranoberfläche konzipiert und Machbarkeit experimentell gezeigt 	<ul style="list-style-type: none"> - Wiederverwendbarkeit der Enzyme wurde gezeigt

Die Basis der zu erfüllenden Kriterien bildet die **Anwendbarkeit des Selbstheilungsmechanismus in der PEMFC**. Auf Basis der vorliegenden Ergebnisse kann die Erfüllung dieser Anforderung jedoch noch nicht bestätigt werden. Der Selbstheilungsmechanismus wurde zwar basierend auf den Betriebs- und Produktionsbedingungen der PEMFC ausgelegt und die Aktivität sowie Stabilität zweier ausgewählter Enzyme initial unter vier Bedingungen (60 °C, pH 3, Einfluss von Gasatmosphären, Einfluss von Lösungsmitteln) getestet, jedoch konnten nicht alle Anforderungen erfüllt werden. In der ersten Phase des Projekts wurde zunächst eine Liste kritischer Einflussfaktoren erstellt, was erfolgreich durchgeführt wurde. Auf Basis der gewonnenen Erkenntnisse kann nun

eine optimierte Auswahl an Enzymen getroffen werden. Als besonders kritischer Parameter wurde die Temperaturbeständigkeit der Enzyme identifiziert. Daher sollte der Fokus auf die Identifikation extremophiler Enzyme oder designer Pepzyme gelegt werden. Alternativ kann eine Modifikation der Enzyme mittels Protein-Engineering in Erwägung gezogen werden, um ihre Temperaturstabilität zu erhöhen. Im Rahmen von Langzeitstudien muss daher insbesondere die Temperaturstabilität geeigneter Enzyme untersucht werden.

Die in dieser Arbeit getesteten Enzyme eignen sich nicht für Langzeitstabilitätsstudien bei Betriebstemperatur der PEMFC (60–80 °C), da die Stabilität bereits nach drei Tagen signifikant abnahm. Diese Entwicklung war für die CRL zu erwarten, da sie auch in der Literatur entsprechend prognostiziert wurde. Die CALB wurde aufgrund ihrer höheren Temperaturstabilität ausgewählt, zeigte sich jedoch aufgrund ihrer dreifach niedrigeren Aktivität als weniger geeignet. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass eine Immobilisierung der Enzyme einen positiven Einfluss auf deren Stabilität unter den Betriebsbedingungen der PEMFC hat. Zudem wurde belegt, dass der pH-Wert sowie der Einfluss von Wasserstoff- oder Sauerstoffatmosphären auf die Enzyme keine kritischen Faktoren darstellen.

Die **Effektivität des Selbstheilungsmechanismus**, Pinholes zu verschließen, konnte bisher nicht abschließend nachgewiesen werden. Jedoch wurden wichtige Meilensteine erreicht. Ein wesentlicher Aspekt war die erfolgreiche enzymatische Polymerisation eines fluorierten Füllstoffs. Das ausgewählte, eigens synthetisierte fluorierte Carbonatmonomer konnte erfolgreich polymerisiert werden. Erste Hinweise auf eine erfolgreiche Polymerisation mit dem besonders aktiven Enzym N435 liegen vor, jedoch ohne reproduzierbare Ergebnisse. Dennoch stellt dies ein beachtliches Ergebnis dar, zumal dieses Molekül bislang noch nie, nach bestem Wissen und Recherchen, enzymatisch hergestellt wurde. Somit handelt es sich hierbei um eine Innovation. Im Rahmen einer Recherche wurden die Bedingungen für geeignete Monomere und Füllstoffe identifiziert. Es konnte nachgewiesen werden, dass das Monomer und der Füllstoff eine Fluorierung aufweisen müssen, um per Fluorophilie an der Membran haften zu können.

Ein weiterer wesentlicher Fortschritt war die erstmalige erfolgreiche Demonstration der Polymerisation durch auf der Membran immobilisierte Enzyme. Es konnte nachgewiesen werden, dass die CRL erfolgreich an Nafion™ Membranen immobilisiert werden

kann, wobei ein F-Rhodamin-Linker zum Einsatz kam (1. Schritt). Es wurden geeignete Immobilisierungsmethoden identifiziert, design und entwickelt, welche die erfolgreiche Immobilisierung von Enzymen an Nafion™ Membranen per Fluor-Tag ermöglichen. Der Nachweis der Aktivität des immobilisierten Enzyms wurde erbracht. Im zweiten Schritt wurde die enzymatische Polymerisation durch Zufuhr des fluorierten Carbonatmonomers durchgeführt, woraufhin im dritten Schritt die Anlagerung des Polymerisats an Nafion™ nachgewiesen werden konnte.

Des Weiteren wurde eine Methode zur Evaluierung der Dichtigkeit der Membranen entwickelt und der entsprechende Aufbau etabliert. Die Erzeugung unterschiedlicher Pinholegrößen ist möglich und deren Nachweis durch Quantifizierung des Wasserdurchtritts durch die Pinholes erfolgreich durchgeführt worden. Im Rahmen nachfolgender Studien ist vorgesehen, die Dichtigkeit für verschiedene Pinhole-Größen zu testen sowie den Langzeitverschluss der Pinholes zu prüfen.

Als dritte Anforderung sollte die Lösung die **Funktionalität der PEMFC möglichst geringfügig beeinträchtigen**, um den positiven Einfluss auf die Leistung nicht zu kompensieren. Derzeit kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob die Verwendung neuer biologischer Materialien einen negativen Einfluss auf die Leistung der PEMFC hat. Dazu sind zukünftig In-situ-Tests in einer PEMFC durchzuführen. Eine mögliche Ursache für eine Beeinträchtigung könnte in einer zu dichten Beladung der Membran mit immobilisierten Enzymen liegen, was die Funktion der PEMFC stören könnte. Es ist jedoch bekannt, dass aufgrund der hohen katalytischen Aktivität von Enzymen lediglich eine geringe Menge erforderlich ist. Des Weiteren führt der punktuelle Kontakt des Linkers zur Membran zu einer Reduktion der Kontaktfläche. Im Rahmen künftiger Experimente bzw. Simulationen ist eine Quantifizierung der genauen Enzymanzahl erforderlich.

Eine weitere Beeinträchtigung der Funktionalität kann durch Verstopfung (Clogging) der PEMFC durch biochemische Komponenten entstehen. Dies kann beispielsweise erfolgen, wenn nicht verbrauchtes Monomer nach einem Selbstheilungszyklus nicht vollständig ausgespült werden kann, wenn Polymere an anderen Stellen als in unmittelbarer Pinhole-Umgebung entstehen oder wenn Enzyme sich von der Membran ablösen. Der komplexe Aufbau der PEMFC kann eine gründliche Spülung erschweren.

Die Funktionalitäten der PEM sind zum einen die Gasdichtigkeit und zum anderen die Protonenleitfähigkeit. Ein Verschluss der Pinholes würde zu einer Wiederherstellung

der Gasdichtigkeit führen. In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob die Protonenleitfähigkeit an der versiegelten Stelle der Membran auch wiederhergestellt werden kann. Eine Protonenübertragung durch den Füllstoff ist jedoch nur dann gewährleistet, wenn das Füllstoffpolymer selbst protonenleitfähig ist.

Eine **Modifikation der Membran**, insbesondere eine Veränderung der Materialstruktur, sollte aus Gründen der Funktionsfähigkeit und Leistung des Systems nach Möglichkeit **unterbleiben**. Das zugrundeliegende Selbstheilungskonzept ist so ausgelegt, dass eine Veränderung der Materialstruktur der Membran vermieden wird. Lediglich die Oberfläche der Membran fungiert als Ankerpunkt für die Enzyme. Ein Linker erzeugt einen Abstand zwischen den Enzymen und der Membran, wodurch die Kontaktfläche durch punktuelle Anhaftung nochmals reduziert wird. Der Einsatz längererkettiger, mehrarmiger Fluor-Tags zur Gewährleistung einer dauerhaft stabilen Anbindung der Enzyme an der Membran wurde als vielversprechender Ansatz identifiziert. Eine alternative Methode zur Immobilisierung stellt die Verwendung eines Peptidlinkers dar, dessen Eignung jedoch weiterer Untersuchungen bedarf.

Für eine langfristige Lösung, die einen positiven Effekt auf die Leistung und Lebensdauer der PEMFC hat, sollte der **Selbstheilungsmechanismus in vielfachen Zyklen anwendbar** sein. Es wurde bereits gezeigt, dass eine mehrfache Wiederverwendbarkeit der immobilisierten Enzyme möglich ist. Abwechselnde Selbstheilungs- und Betriebszyklen müssen über einen längeren Zeitraum durchgeführt werden, um die Wiederverwendbarkeit zu demonstrieren.

6.2 Ausblick

Die Anwendbarkeit des Selbstheilungsmechanismus für PEM in PEMFC erfordert die Durchführung weiterer Arbeiten. Die weiteren Arbeiten umfassen die Weiterentwicklung und Optimierung der Einzelschritte der Selbstheilungsreaktion sowie die anschließende Zusammenführung der Einzelschritte zur Demonstration der Selbstheilung der Membran. Die mittelfristige Integration der Lösung in die PEMFC sowie der Aufbau eines Prototyps sind weitere zu realisierende Schritte. In der Folge kann eine Validierung durch Selbstheilungs- und Funktionstests erfolgen. In einer abschließenden Betrachtung soll die langfristige Vision einer Integration des Selbstheilungsmechanismus in den Lebenszyklus der PEMFC aufgezeigt werden.

Kurzfristig - Weiterentwicklung und Optimierung der einzelnen Schritte der Selbstheilungsreaktion und proof-of-concept

Optimierung Enzym bzgl. thermische Stabilität: Weitere Versuche sollen sich mit der Identifizierung temperaturstabiler Enzyme befassen, die in der Lage sind, fluoriierte Polymerbausteine umzusetzen. Dies kann durch ein umfassendes Screening bekannter Enzyme, computergestütztes Design und gerichtete Evolution erreicht werden. Das Screening kann auch auf unbekannte Enzyme ausgeweitet werden, die in der Lage sind, Fluorpolymere abzubauen, um potenzielle Wege für die Synthese solcher Polymere aufzuzeigen.

Optimierung Immobilisierung: Die stabile Immobilisierung der optimierten Enzyme an die Membran soll mittels langkettiger mehrarmiger Fluor-Tags gezeigt und ihre langfristige Stabilität unter Betriebsbedingungen der PEMFC untersucht werden. Gleichzeitig kann die alternative Immobilisierungsmethode über den selektierten Peptidlinker weiter erforscht werden. Bei Erfolg kann das Enzym mit dem Peptid als gemeinsames Konstrukt hergestellt werden, um einen späteren Herstellungsschritt zu eliminieren.

Optimierung enzymatische Polymerisation: Mit dem stabilen Immobilisat muss die mehrfache Polymerisationsfähigkeit von Enzymen, die auf Nafion™ immobilisiert sind, gezeigt werden. Die Polymereigenschaften müssen genauer untersucht und optimiert werden. Es können auch weitere fluoriierte Monomere getestet werden.

Demonstration der Haftung des Füllstoffs per Fluorophilie: Um den optimalen Füllstoff zu finden, sollen in Versuchsreihen die Zusammenhänge zwischen Molekülstruktur/Kettenlänge eines Polymers und der adhäsiven Wechselwirkung mit der Membran per Fluorophilie untersucht werden. Dichtheitsuntersuchungen mit Hilfe des aufgebauten Testsystems und mikroskopische Untersuchungen sollen die Haftung und die Langzeitstabilität des Füllstoffs unter Betriebsbedingungen der PEMFC bestätigen. Die Einzelschritte sollen kombiniert werden, um die Selbstheilung der Membran zu demonstrieren.

Mittelfristig - Lösungsintegration und Prototyp

Die enzymbeladene Membran soll weiter zur CCM und zur MEA prozessiert und getestet werden, wobei die Integration in den CCM-Prozess, die Material- und Verfahrenskompatibilität untersucht werden soll. Ein Prototyp soll aufgebaut werden und der erfolgreiche Verschluss der Pinholes im Gesamtsystem MEA soll nachgewiesen werden.

Der Laboransatz kann dazu bei einem Industriepartner auf Einzelzellen übertragen werden. Geeignete Verfahren zur Enzymbeladung der Membran und zur Aufbringung der Platin-Katalysatorschicht sollen identifiziert werden. Die Leistung der modifizierten Einzelzelle soll bestimmt werden. Der Weg des Monomers zum Enzym ist zu prüfen und der Spülzyklus ist auszulegen, um überschüssiges Monomer zu entfernen. Die Monomierzufuhr (ex-situ-Tests), die Funktionsfähigkeit der PEMFC und die Selbstheilung sollen getestet werden (in-situ-Tests).

Im Rahmen der Auslegung des Selbstheilungsmechanismus ist es erforderlich, quantitative Bestimmungen der notwendigen Enzym- und Monomermengen durchzuführen. Die erforderliche Quantität des Füllstoffs lässt sich anhand der Frequenz der Pinholebildung im Zeitverlauf bestimmen. Die Auswahl des Füllstoffmoleküls sowie die zugrunde liegenden Reaktionsparameter definieren die erforderliche Menge an Enzym und Monomer.

Langfristig - Integration in den Lebenszyklus der PEMFC

Um den Selbstheilungsmechanismus zu realisieren, ist sowohl ein Eingriff in die Fertigung und Montage der PEMFC als auch eine Anpassung im Betrieb erforderlich. Die Integration des Selbstheilungsmechanismus in den Lebenszyklus der PEMFC kann gemäß Abbildung 6-1 dargestellt werden. Neue Prozessschritte sind in Hellgrün, bestehende Prozessschritte in Schwarz markiert.

Im Rahmen der Fertigung erfolgt die Integration der Enzymschicht. Dazu ist ein zusätzlicher Fertigungsschritt erforderlich, der zwischen der Membranfertigung und der Aufbringung der Platin-Katalysatorschicht in den bestehenden Produktionsprozess integriert werden muss. Die Immobilisierung der Enzyme gewährleistet die Verfügbarkeit für eine Vielzahl von Selbstheilungszyklen. Für die Monomerversorgung wird ein Tank, der das Monomer enthält, in das Fahrzeug installiert. Der Selbstheilungsmechanismus erfolgt folglich außerhalb der Betriebszeit des Fahrzeugs. Dazu können Pausenzeiten oder Stillstandzeiten genutzt werden, in denen von Normalbetrieb auf Selbstheilungsbetrieb gewechselt wird. Alternativ wäre es möglich, einen Teil der PEMFC Module im Selbstheilungsbetrieb und einen anderen Teil der PEMFC Module im Normalbetrieb zu betreiben. Im Selbstheilungsbetrieb wird das Monomer aus dem installierten Tank der PEMFC zugeführt und die Polymerisationsreaktion findet statt, wodurch vorhandene Pinholes versiegelt werden. Abschließend muss ein Spülzyklus gestartet werden,

wodurch überschüssiges Monomer entfernt wird, bevor das Fahrzeug in den Normalbetrieb übergeht. Das notwendige Steuerungskonzept sowie ein Spülkonzept müssen dazu ausgelegt werden.

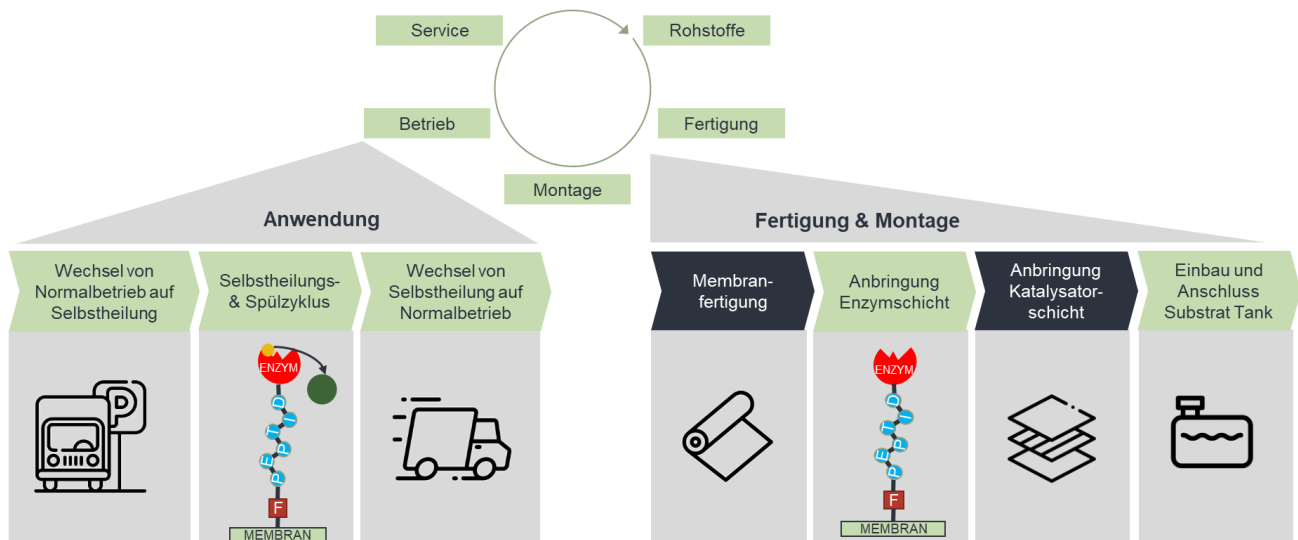


Abbildung 6-1: Integration des enzymatischen Selbstheilungsmechanismus in den Lebenszyklus der PEMFC.

Übertragbarkeit auf andere Anwendungen

Eine direkte Übertragbarkeit des Selbstheilungsmechanismus ist auf PEM-Elektrolyseure gegeben, da diese unter ähnlichen Betriebsbedingungen arbeiten. Pinholes beeinflussen genauso den Gascrossover, die Effizienz und die Sicherheit von PEM-Elektrolyseuren (Liu et al. 2023).

7 Zusammenfassung

Polymerelektrolytmembran-Brennstoffzellen (PEMFC) repräsentieren eine vielversprechende, emissionsfreie Technologie, deren Potenzial zur grundlegenden Veränderung der Mobilität der Zukunft bisher noch nicht vollumfänglich ausgeschöpft ist. Ein wesentliches Problem von PEMFC ist die Bildung von Pinholes in der Membran. Diese entstehen durch verschiedene Einflussfaktoren, darunter mechanische, thermische und chemische Degradation sowie zyklische Beanspruchung. Diese Pinholes kennzeichnen den Beginn eines fortschreitenden Alterungsprozesses, der letztlich zu irreparablen Schäden führt. Diese äußern sich zunächst in einem Leistungsabfall und letztendlich im vorzeitigen Lebensende der PEMFC. Des Weiteren besteht ein beträchtliches Sicherheitsrisiko, da durch die Pinholes eine Reaktion von Wasserstoff und Sauerstoff zu Knallgas möglich ist.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein innovativer Ansatz zur Behebung des Pinhole-Problems in Protonenaustauschmembranen (PEM) von PEMFC konzipiert und in ersten experimentellen Untersuchungen validiert. Herkömmliche Maßnahmen, wie die Entwicklung stabilerer Membranen oder Änderungen der Betriebsstrategien, können den Verschleiß zwar verzögern, lösen das Problem jedoch nicht. Ein Selbstheilungsmechanismus, der auf füllstoffbildenden Enzymen basiert, wurde konzipiert und drei alternative Ausgestaltungen gegenübergestellt und bewertet. Der Mechanismus umfasst drei Schritte: die Immobilisierung von Enzymen an der PEM, die Zuführung eines geeigneten Monomers zu den Enzymen und die Polymerisation des Monomers zu einem Füllstoff, der sich in den Pinholes ablagert und diese verschließt, um die Gasdichtigkeit der Membran wiederherzustellen. Das Konzept vereint die Vorteile einer mehrfachen Selbstheilung der Membran, ohne die Membran strukturell grundlegend verändern zu müssen. Die Enzyme sind über einen *Linker* an der Membranoberfläche immobilisiert und fungieren als Biokatalysatoren, welche in der Lage sind, wiederholt Füllstoff zu polymerisieren. Dieser wird von extern in jedem Selbstheilungszyklus der PEMFC zugeführt. Dadurch ist das Füllstoffmaterial nicht endlich.

Im Rahmen erster experimenteller Untersuchungen zur Machbarkeit erfolgte eine Analyse der Enzymaktivität und -stabilität zweier ausgewählter Lipasen (CRL und CALB) unter den Betriebsparametern der PEMFC (pH 3, 60–80 °C, H₂- und O₂-Atmosphären, alkoholhaltige Lösungsmittel). Die Untersuchungen ergaben, dass der pH-Wert sowie

die Gasatmosphären als unkritisch zu bewerten sind. Demgegenüber wurde die Temperaturstabilität der Enzyme als kritisch identifiziert und muss folglich optimiert werden. Die Immobilisierung der Enzyme führte zu einer signifikanten Steigerung der Stabilität gegenüber sämtlichen Parametern.

Im zweiten Schritt wurden zwei Methoden zur Enzymimmobilisierung an PEM (NafionTM) experimentell untersucht. Dabei konnte die Immobilisierung durch Fluorophilie erfolgreich durchgeführt werden, sodass im Anschluss die Enzymaktivität des Immobilisats per p-NPA-Assay nachgewiesen werden konnte. Eine zweite Entwicklung umfasste die Immobilisierung mittels selektivem Peptidlinker, welcher durch spezifische Konformationen an der Membran haftet. Eine weiterführende Untersuchung der Eignung dieser Methode für diesen Anwendungsfall ist erforderlich.

Im dritten Schritt wurde die Füllstoffsynthese durch Lipasen experimentell untersucht. Ein bislang in der Literatur nicht beschriebenes fluoriertes Carbonatmonomer, 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on, wurde erstmals synthetisiert und in einer Ringöffnungspolymerisation mittels Lipase polymerisiert. Es wurden Feststoffe erhalten. Der niedermolekulare, lösliche Anteil der Feststoffe wurde mittels SEC, DSC und TGA analysiert. Weitere Charakterisierungen des Polymers sowie Reproduzierbarkeitsstudien sind erforderlich. Die Polymerisation des Carbonatmonomers in Anwesenheit einer an der NafionTM Membran immobilisierten Lipase (CRL) wurde ebenfalls demonstriert. Mittels ToF-SIMS konnte nachgewiesen werden, dass sich das Polymer bevorzugt in den Poren der NafionTM Membran anlagert. In weiteren Untersuchungen muss die langfristige Haftung und der Verschluss verschieden großer Pinholes demonstriert werden. Zu diesem Zweck wurde eine Methode entwickelt, mit der dedizierte künstliche Pinholes in unterschiedlichen Größen hergestellt und vermessen werden können. Zudem wurde ein Testsystem aufgebaut, welches eine Quantifizierung der Dichtigkeit der Pinholes in Echtzeit ermöglicht.

Die vorliegende Dissertation legt den Grundstein für das Konzept eines Selbstheilungsmechanismus für PEM, welcher die Eigenschaften einer mehrfachen Selbstheilung bei geringfügiger Modifikation der Membran kombiniert. Dadurch kann der Leistungsverlust der PEMFC deutlich reduziert und deren Lebensdauer signifikant verlängert werden. Die ersten experimentellen Ergebnisse lassen ein großes Potential hinsichtlich der Machbarkeit erkennen. Der enzymbasierte Selbstheilungsmechanismus bietet daher eine vielversprechende Lösung zur Verlängerung der Lebensdauer von PEMFCs.

Liste der eigenen Veröffentlichungen

- Benfer, M.; Gartner, P.; Klenk, F.; Wallner, C.; Jaspers, M.-C.; Peukert, S.; Lanza, G. (2022), "A Circular Economy Strategy Selection Approach: Component-based Strategy Assignment using the Example of Electric Motors", *Proceedings of the Conference on Production Systems and Logistics 2022*, S. 22-31, Conference on Production Systems and Logistics (CPSL 2022) <https://doi.org/10.15488/12133>
- Benfer, M.; Gartner, P.; Treber, S.; Kuhnle, A.; Häfner, B.; Lanza, G. (2020), „Implementierung von unternehmensübergreifender Traceability“, *Zeitschrift für wirtschaftlichen Fabrikbetrieb*, 115(5), S. 304–308. <https://doi.org/10.3139/104.112284>
- Fessenmayr, F.; Benfer, M.; Gartner, P.; Lanza, G. (2022), „Selection of traceability-based, automated decision-making methods in global production networks“, *Procedia CIRP*, 107, S. 1349–1354. Conference on Manufacturing Systems (CMS 2022) <https://doi.org/10.1016/j.procir.2022.05.156>.
- Gartner, P.; Benfer, M.; Kuhnle, A.; Lanza, G. (2021), „Potentials of Traceability Systems - a Cross-Industry Perspective“, *Procedia CIRP*, 104, S. 987–992. Conference on Manufacturing Systems (CMS 2021) <https://doi.org/10.1016/j.procir.2021.11.166>.
- Gartner, P.; Bilger, M.; Bräse, S.; Gottwald, D.; Hubbuch, J.; Lanza, G.; Perner-Nochta, I.; Stahlberger, M. (2023), "Authentifizierungsverfahren von Produkten über eine Enzym-Substrat-Reaktion", Anmeldeschrift, A23301 DE P, Anmelder KIT, Anmeldedatum 06.02.2023.
- Gartner, P.; Bilger, M.; Wurster, M.; Kandler, M.; May, M.; Lanza, G. (2024), "The Bio-inspired Changeable Production System – A Stem Cell Approach“, *Procedia CIRP*, 130, S. 1256–1261. Conference on Manufacturing Systems (CMS 2024) <https://doi.org/10.1016/j.procir.2024.10.236>.
- Gartner, P. & Fischmann, P. (2021), „BMBF MeSATech: Variantenreiche medizinische Produkte durch Kombination von subtraktiven und additiven Fertigungstechnologien“, Technology Mountains Innovationsforum Medizintechnik Tuttlingen, 2021, poster presentation.
- Gartner, P.; Jacob, A.; Akay, H.; Löffler, J.; Gammack, J.; Lanza, G.; Kim, S.-G. (2022), "Manufacturing Genome: A Foundation for Symbiotic, Highly Iterative

Product and Production Adaptations”. Towards Sustainable Customization: Bridging Smart Products and Manufacturing Systems. *Lecture Notes in Mechanical Engineering*. S. 35-46. Changeable, Agile, Reconfigurable and Virtual Production Conference and the World Mass Customization & Personalization Conference (CARV 2021) https://doi.org/10.1007/978-3-030-90700-6_3.

Gartner, P.; Krischke, N.; Benfer, M.; Bender, M.; Lanza, G.; Fleischer, J.; Dost, G. (2022), “Single part tracking enabled by fluorescent Polysecure tracing particles in AM parts”, *Proceedings of the Solid Freeform Fabrication Symposium – An Additive Manufacturing Conference*, 33, S.1998-2010. <https://doi.org/10.5445/IR/1000152858>.

Gartner, P.; Lanza, G.; Rudat, J.; Bilger, M.; Grünert, T.; Nesterov-Mueller, A.; Zimmerer, N.; Quarz, P.; Scharfer, P.; Schabel, W.; Jung, A. P.; Stahlberger, M.; Bräse, S. (2023), „Self-healing Fuel Cells by Biological Actuators“, *Procedia CIRP*, 116, S. 161–166. Conference on Life Cycle Engineering (LCE 2023) <https://doi.org/10.1016/j.procir.2023.02.028>.

Gartner, P.; Rudat, J.; Bilger, M.; Grünert, T.; Lanza, G. (2023), „Enzyme Immobilization On Polypropylene Film: A Role Model For Biocatalytic Polymer Membranes?“, *Journal of Enzymes*, 1(3), S. 1–12. <https://doi.org/10.14302/issn.2690-4829.jen-23-4799>.

Gartner, P.; Stahlberger, M.; Lanza, G.; Bräse, S. (2024), “Biofunctionalised polymer electrolyte membrane for self-healing fuel cells and electrolyzers from pinholes“, *WILEY Applied Research*. 17th International Symposium on Flexible Organic Electronics (ISFOE 2024), poster presentation.

Schmidt, D.; Gartner, P.; Berezkin, I.; Rudat, J.; Bilger, M.; Grünert, T.; Zimmerer, N.; Quarz, P.; Scharfer, P.; Brückel, J.; Jung, A. P.; Singh, P.; Pooja, P.; Meier, B.; Stahlberger, M.; Schabel, W.; Bräse, S.; Lanza, G.; Nesterov-Mueller, A. (2024), „Selective Peptide Binders to the Perfluorinated Sulfonic Acid Ionomer Nafion“, *Advanced Functional Materials*, 34(20). <https://doi.org/10.1002/adfm.202214932>.

Literaturverzeichnis

Literaturangaben nach dem Schema (A_<Nachname> <Jahr>) beziehen sich auf studentische Abschlussarbeiten, die von der Verfasserin dieser Arbeit inhaltlich und organisatorisch angeleitet wurden.

A_Adami 2023

Adami, L. (2023), *Biokatalytische Polymerisationsreaktionen zur Selbstheilung von NafionTM-Membranen in Polymerelektrolytmembran-Brennstoffzellen: Anwendungstechnische Charakterisierung geeigneter Enzyme und Substrate*. Masterarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik BLT2.

A_Bilger 2022

Bilger, M. (2022), *Mit biohybrider Technologie zur selbstheilenden Brennstoffzelle: Etablierung neuer Immobilisierungstechniken für geeignete Enzyme*. Masterarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik BLT2.

A_Grünert 2022

Grünert, T. (2022), *Biotechnologische Realisierung einer selbstheilenden Brennstoffzelle: Anwendungstechnische Charakterisierung geeigneter Enzyme und Immobilisierungstechniken*. Masterarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik BLT2.

A_Moench 2023

Moench, R. (2023), *Synthese fluorierter Monomere für enzymatische Polymerisation*. Bachelorarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Organische Chemie.

A_Schwarzer 2023

Schwarzer, M. (2023), *Anwendungstechnische Charakterisierung der Dichtigkeit modifizierter NafionTM-Membranen zur Analyse des enzymatischen Selbstheilungseffektes von Brennstoffzellmembranen*. Bachelorarbeit, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik BLT2.

Albertsson & Varma 2003

Albertsson, A.-C. & Varma, I. K. (2003), „Recent developments in ring opening polymerization of lactones for biomedical applications“, *Biomacromolecules*, 4(6), S. 1466–1486. <https://doi.org/10.1021/bm034247a>.

Araya et al. 2022

Araya, S. S.; Li, N. & Liso, V. (2022), „Chapter 9 - Degradation and failure modes in proton exchange membrane fuel cells“ in *PEM Fuel Cells*, Gurbinder Kaur, Elsevier, S. 199–222. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823708-3.00015-8>

Banerjee 2015

Banerjee, S. (2015), *Handbook of specialty fluorinated polymers. Preparation, properties, and applications*, William Andrew / Elsevier, Kidlington, England, Waltham, MA. ISBN: 978-0-323-35792-0.

Barbir 2013

Barbir, F. (2013), *PEM fuel cells. Theory and practice*, Elsevier/Academic Press, Amsterdam, Boston. ISBN: 9780123877109.

Barik et al. 2022

Barik, A.; Sen, S. K.; Rajhans, G. & Raut, S. (2022), „Purification and Optimization of Extracellular Lipase from a Novel Strain *Kocuria flava* Y4“, *International journal of analytical chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2022/6403090>.

Bellina et al. 2015

Bellina, B.; Merthe, D. J. & Kresin, V. V. (2015), „Proton transfer in histidine-tryptophan heterodimers embedded in helium droplets“, *The Journal of chemical physics*, 142(11). <https://doi.org/10.1063/1.4914902>.

Bendler et al. 2012

Bendler, J. T.; Edmondson, C. A.; Wintersgill, M. C.; Boyles, D. A.; Filipova, T. S. & Fontanella, J. J. (2012), „Electrical properties of a novel fluorinated polycarbonate“, *European Polymer Journal*, 48(4), S. 830–840. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.02.001>.

Benjamin & Pandey 1998

Benjamin, S. & Pandey, A. (1998), „*Candida rugosa* lipases: Molecular biology and versatility in biotechnology“, *Yeast*, 14(12), S. 1069–1087.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0061\(19980915\)14:12<1069::AID-YEA303>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0061(19980915)14:12<1069::AID-YEA303>3.0.CO;2-K).

Berkowitz & Bose 2001

Berkowitz, D. B. & Bose, M. (2001), „(α -Monofluoroalkyl)phosphonates: a class of isoacidic and “tunable” mimics of biological phosphates“, *Journal of Fluorine Chemistry*, 112(1), S. 13–33. [https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(01\)00478-X](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(01)00478-X).

Bhattacharya et al. 2020

Bhattacharya, S.; Leung, J.; Lauritzen, M. V. & Kjeang, E. (2020), „Isolated chemical degradation induced decay of mechanical membrane properties in fuel cells“, *Electrochimica Acta*, 352. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136489>.

Biffinger et al. 2004

Biffinger, J. C.; Kim, H. W. & DiMagno, S. G. (2004), „The polar hydrophobicity of fluorinated compounds“, *Chembiochem : a European journal of chemical biology*, 5(5), S. 622–627. <https://doi.org/10.1002/cbic.200300910>.

Bisht et al. 1997

Bisht, K. S.; Svirkin, Y. Y.; Henderson, L. A.; Gross, R. A.; Kaplan, D. L. & Swift, G. (1997), „Lipase-Catalyzed Ring-Opening Polymerization of Trimethylene Carbonate“, *Macromolecules*, 30(25), S. 7735–7742. <https://doi.org/10.1021/ma9708858>.

Bisswanger 2015

Bisswanger, H. (2015), *Enzyme. Struktur, Kinetik und Anwendungen*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN: 978-3-527-33675-3.

BMWI 2020

BMWI (2020), *Nationales Reformprogramm 2020 - Die Nationale Wasserstoffstrategie*. https://www.bmwk.de/Redaktion/DE/Publikationen/Energie/die-nationale-wasserstoffstrategie.pdf?__blob=publicationFile&v=20 [16.04.2024].

Bodner et al. 2015

Bodner, M.; Hochenauer, C. & Hacker, V. (2015), „Effect of pinhole location on degradation in polymer electrolyte fuel cells“, *Journal of Power Sources*, 295, S. 336–348. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2015.07.021>.

Böhm & Finsterwalder 2004

Böhm, G. & Finsterwalder, F., *Selbstheilende Membran Für eine Brennstoffzelle*(2004), DE 103 12 029 A1.

Bonitz, S. 2016

Bonitz, S. (2016), *Zur Lebensdauerabschätzung von Brennstoffzellen mit den Methoden der Betriebsfestigkeit*. Dissertation, TU Clausthal, Claus-Zellerfeld.
<https://doi.org/10.21268/20161021-094438>.

Bornscheuer et al. 2002

Bornscheuer, U. T.; Bessler, C.; Srinivas, R. & Krishna, S. H. (2002), „Optimizing lipases and related enzymes for efficient application“, *Trends in Biotechnology*, 20(10), S. 433–437. [https://doi.org/10.1016/s0167-7799\(02\)02046-2](https://doi.org/10.1016/s0167-7799(02)02046-2).

Borup et al. 2006

Borup, R.; Davey, J.; Garzon, F.; Wood, D.; Welch, P. & More, K. (2006), „Polymer electrolyte membrane (PEM) fuel cell durability“, *Materials Research Highlight*.
<https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2006.03.009>.

Boudghene Stambouli & Traversa 2002

Boudghene Stambouli, A. & Traversa, E. (2002), „Fuel cells, an alternative to standard sources of energy“, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 6(3), S. 295–304. [https://doi.org/10.1016/S1364-0321\(01\)00015-6](https://doi.org/10.1016/S1364-0321(01)00015-6).

Bowers et al. 1980

Bowers, G. N.; McComb, R. B.; Christensen, R. G. & Schaffer, R. (1980), „High-purity 4-nitrophenol: purification, characterization, and specifications for use as a spectrophotometric reference material“, *Clinical Chemistry*, 26(6), S. 724–729.
<https://doi.org/10.1093/clinchem/26.6.724>.

Brochu et al. 2011

Brochu, A. B. W.; Craig, S. L. & Reichert, W. M. (2011), „Self-healing biomaterials“, *Journal of biomedical materials research. Part A*, 96(2), S. 492–506.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.32987>.

Brooks & Roy 2021

Brooks, S. & Roy, R. (2021), „An overview of self-engineering systems“, *Journal of*

Engineering Design, 32(8), S. 397–447.

<https://doi.org/10.1080/09544828.2021.1914323>.

Bruijn et al. 2008

Bruijn, F. A. de; Dam, V. A. T. & Janssen, G. J. M. (2008), „Review: Durability and Degradation Issues of PEM Fuel Cell Components“, *Fuel Cells*, 8(1), S. 3–22.

<https://doi.org/10.1002/fuce.200700053>.

Büchi et al. 2009

Büchi, F. N.; Inaba, M. & Schmidt, T. J. (2009), *Polymer electrolyte fuel cell durability*, SPRINGER, New York. ISBN: 978-0-387-85534-9.

Cabrera et al. 2009

Cabrera, Z.; Fernandez-Lorente, G.; Fernandez-Lafuente, R.; Palomo, J. M. & Guisan, J. M. (2009), „Enhancement of Novozym-435 catalytic properties by physical or chemical modification“, *Process Biochemistry*, 44(2), S. 226–231.

<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.10.005>.

California Fuel Cell Partnership 2018

California Fuel Cell Partnership (2018), *The California fuel cell revolution*.

<https://cafcp.org/sites/default/files/CAFCR.pdf>.

Çalık et al. 2017

Çalık, A.; Yıldırım, S. & Tosun, E. (2017), „Estimation of crack propagation in polymer electrolyte membrane fuel cell under vibration conditions“, *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(36). <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.02.119>.

Cao et al. 2017

Cao, Y.; Morrissey, T. G.; Acome, E.; Allec, S. I.; Wong, B. M.; Keplinger, C. & Wang, C. (2017), „A Transparent, Self-Healing, Highly Stretchable Ionic Conductor“, *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 29(10).

<https://doi.org/10.1002/adma.201605099>.

Cao et al. 2018

Cao, Y.; Wu, H.; Allec, S. I.; Wong, B. M.; Nguyen, D.-S. & Wang, C. (2018), „A Highly Stretchy, Transparent Elastomer with the Capability to Automatically Self-Heal Underwater“, *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 30(49).

<https://doi.org/10.1002/adma.201804602>.

Carrillo et al. 2012

Carrillo, N.; León-Silva, U.; Avalos, T.; Nicho, M. E.; Serna, S.; Castillon, F.; Farias, M. & Cruz-Silva, R. (2012), „Enzymatically synthesized polyaniline film deposition studied by simultaneous open circuit potential and electrochemical quartz crystal microbalance measurements“, *Journal of colloid and interface science*, 369(1), S. 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.12.021>.

Cash et al. 2015

Cash, J. J.; Kubo, T.; Bapat, A. P. & Sumerlin, B. S. (2015), „Room-Temperature Self-Healing Polymers Based on Dynamic-Covalent Boronic Esters“, *Macromolecules*, 48(7), S. 2098–2106. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b00210>.

Chandesris et al. 2017

Chandesris, M.; Vincent, R.; Guetaz, L.; Roch, J.-S.; Thoby, D. & Quinaud, M. (2017), „Membrane degradation in PEM fuel cells: From experimental results to semi-empirical degradation laws“, *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(12), S. 8139–8149. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.02.116>.

Chang et al. 2006

Chang, S.-W.; Lee, G.-C. & Shaw, J.-F. (2006), „Codon Optimization of Candida rugosa lip 1 Gene for Improving Expression in Pichia pastoris and Biochemical Characterization of the Purified Recombinant LIP1 Lipase“, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3), S. 815–822. <https://doi.org/10.1021/jf052183k>.

Chen et al. 2018

Chen, H.; Song, Z.; Zhao, X.; Zhang, T.; Pei, P. & Liang, C. (2018), „A review of durability test protocols of the proton exchange membrane fuel cells for vehicle“, *Applied Energy*, 224, S. 289–299. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.04.050>.

Chmiel et al. 2018

Chmiel, H.; Takors, R. & Weuster-Botz, D. (2018), *Bioprozesstechnik*, SPRINGER. ISBN: 366254041X.

Dafalla et al. 2022

Dafalla, A. M.; Wei, L.; Habte, B. T.; Guo, J. & Jiang, F. (2022), „Membrane Electrode Assembly Degradation Modeling of Proton Exchange Membrane Fuel Cells: A Review“, *Energies*, 15(23), S. 9247. <https://doi.org/10.3390/en15239247>.

Debuissy et al. 2016

Debuissy, T.; Pollet, E. & Avérous, L. (2016), „Enzymatic Synthesis of a Bio-Based Copolyester from Poly(butylene succinate) and Poly((R)-3-hydroxybutyrate): Study of Reaction Parameters on the Transesterification Rate“, *Biomacromolecules*, 17(12), S. 4054–4063. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.6b01494>.

Dechy-Cabaret et al. 2004

Dechy-Cabaret, O.; Martin-Vaca, B. & Bourissou, D. (2004), „Controlled ring-opening polymerization of lactide and glycolide“, *Chemical reviews*, 104(12), S. 6147–6176. <https://doi.org/10.1021/cr040002s>.

Deng et al. 2022

Deng, K.; Zhou, S.; Xu, Z.; Xiao, M. & Meng, Y. (2022), „A high ion-conducting, self-healing and nonflammable polymer electrolyte with dynamic imine bonds for dendrite-free lithium metal batteries“, *Chemical Engineering Journal*, 428. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131224>.

Deng & Gross 1999

Deng, F. & Gross, R. A. (1999), „Ring-opening bulk polymerization of epsilon-caprolactone and trimethylene carbonate catalyzed by lipase Novozym 435“, *International journal of biological macromolecules*, 25(1-3), S. 153–159. [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(99\)00029-X](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(99)00029-X).

Devanathan 2008

Devanathan, R. (2008), „Recent developments in proton exchange membranes for fuel cells“, *Energy & Environmental Science*, 1(1), S. 101. <https://doi.org/10.1039/b808149m>.

Domínguez de María et al. 2006

Domínguez de María, P.; Sánchez-Montero, J. M.; Sinisterra, J. V. & Alcántara, A. R. (2006), „Understanding Candida rugosa lipases: an overview“, *Biotechnology advances*, 24(2), S. 180–196. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.09.003>.

Dwevedi 2016

Dwevedi, A. (2016), *Enzyme Immobilization*, Springer International Publishing, Cham. ISBN: 978-3-319-41416-4 978-3-319-41418-8.

Ehlinger et al. 2019

Ehlinger, V. M.; Kusoglu, A. & Weber, A. Z. (2019), „Modeling Coupled Durability

and Performance in Polymer-Electrolyte Fuel Cells: Membrane Effects“, *Journal of The Electrochemical Society*, 166(7). <https://doi.org/10.1149/2.0281907jes>.

Engel et al. 2019

Engel, J.; Cordellier, A.; Huang, L. & Kara, S. (2019), „Enzymatic Ring-Opening Polymerization of Lactones: Traditional Approaches and Alternative Strategies“, *ChemCatChem*, 11(20), S. 4983–4997. <https://doi.org/10.1002/cctc.201900976>.

Esser-Kahn et al. 2010

Esser-Kahn, A. P.; Sottos, N. R.; White, S. R. & Moore, J. S. (2010), „Programmable microcapsules from self-immolative polymers“, *Journal of the American Chemical Society*, 132(30), S. 10266–10268. <https://doi.org/10.1021/ja104812p>.

European Commission 2019

European Commission (2019), *The European green deal*, European Commission Brussels, Belgium.

European Parliament 2023, *Verordnung (EU) 2023/851*.

Fang et al. 2018

Fang, C.; Sobhani, Z.; Megharaj, M. & Naidu, R. (2018), „Electrochemical Proof of Fluorophilic Interaction among Fluoro-Carbon Chains“, *Electroanalysis*, 30(10), S. 2349–2355. <https://doi.org/10.1002/elan.201800190>.

Feng et al. 2009

Feng, J.; Wang, H.; Zhang, X. & Zhuo, R. (2009), „Investigation on lipase-catalyzed solution polymerization of cyclic carbonate“, *European Polymer Journal*, 45(2), S. 523–529. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2008.11.006>.

Foresti & Ferreira 2004

Foresti, M. L. & Ferreira, M. L. (2004), „Synthesis of Polycaprolactone Using Free/Supported Enzymatic and Non-Enzymatic Catalysts“, *Macromolecular Rapid Communications*, 25(24), S. 2025–2028. <https://doi.org/10.1002/marc.200400392>.

Frei et al. 2013

Frei, R.; McWilliam, R.; Derrick, B.; Purvis, A.; Tiwari, A. & Di Marzo Serugendo, G. (2013), „Self-healing and self-repairing technologies“, *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 69(5-8), S. 1033–1061. <https://doi.org/10.1007/s00170-013-5070-2>.

Futter et al. 2019

Futter, G. A.; Latz, A. & Jahnke, T. (2019), „Physical modeling of chemical membrane degradation in polymer electrolyte membrane fuel cells: Influence of pressure, relative humidity and cell voltage“, *Journal of Power Sources*, 410-411, S. 78–90. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2018.10.085>.

Gaddes et al. 2016

Gaddes, D.; Jung, H.; Pena-Francesch, A.; Dion, G.; Tadigadapa, S.; Dressick, W. J. & Demirel, M. C. (2016), „Self-Healing Textile: Enzyme Encapsulated Layer-by-Layer Structural Proteins“, *ACS applied materials & interfaces*, 8(31), S. 20371–20378. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b05232>.

Gartner et al. 2023a

Gartner, P.; Lanza, G.; Rudat, J.; Bilger, M.; Grünert, T.; Nesterov-Mueller, A.; Zimmerer, N.; Quarz, P.; Scharfer, P.; Schabel, W.; Jung, A. P.; Stahlberger, M. & Bräse, S. (2023), „Self-healing Fuel Cells by Biological Actuators“, *Procedia CIRP*, 116, S. 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2023.02.028>.

Gartner et al. 2023b

Gartner, P.; Rudat, J.; Bilger, M.; Grünert, T. & Lanza, G. (2023), „Enzyme Immobilization On Polypropylene Film: A Role Model For Biocatalytic Polymer Membranes?“, *Journal of Enzymes*, 1(3), S. 1–12. <https://doi.org/10.14302/issn.2690-4829.jen-23-4799>.

Giffin et al. 2013

Giffin, G. A.; Haugen, G. M.; Hamrock, S. J. & Di Noto, V. (2013), „Interplay between structure and relaxations in perfluorosulfonic acid proton conducting membranes“, *Journal of the American Chemical Society*, 135(2), S. 822–834. <https://doi.org/10.1021/ja3099799>.

Gladysz 2004

Gladysz, J. A. (Hrsg.) (2004), *Handbook of fluorine chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim. ISBN: 352730617X.

Gnann et al. 2017

Gnann, T.; Wietschel, M.; Kühn, A.; Thielmann, A.; Sauer, A.; Plötz, P.; Moll, C.; Stütz, S.; Schellert, M.; Rüdiger, D. & Waß- (2017), „Brennstoffzellen-Lkw: kritische Entwicklungshemmnisse, Forschungsbedarf und Marktpotential. Studie im

Rahmen der wissenschaftlichen Beratung des BMVI zur Mobilitäts- und Kraftstoffstrategie der Bundesregierung“. Fraunhofer ISI, Karlsruhe, Fraunhofer IML, Dortmund, PTV Transport Consult GmbH. <https://doi.org/10.24406/publica-fhg-298630>.

Gressner & Arndt 2019

Gressner, A. M. & Arndt, T. (2019), *Lexikon der medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*, SPRINGER. ISBN: 978-3-662-48985-7.

Grochulski & Cygler 1994

Grochulski, P. & Cygler, M. (1994), *Insight into interfacial activation from an open structure of Candida rugosa lipase*.

Gumel et al. 2011

Gumel, A. M.; Annuar, M.; Heidelberg, T. & Chisti, Y. (2011), „Lipase mediated synthesis of sugar fatty acid esters“, *Process Biochemistry*, 46(11), S. 2079–2090. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.07.021>.

Guo et al. 2021

Guo, Y.; Pan, F.; Chen, W.; Ding, Z.; Yang, D.; Li, B.; Ming, P. & Zhang, C. (2021), „The Controllable Design of Catalyst Inks to Enhance PEMFC Performance: A Review“, *Electrochemical Energy Reviews*, 4(1), S. 67–100. <https://doi.org/10.1007/s41918-020-00083-2>.

Habib et al. 2021

Habib, M. S.; Arefin, P.; Salam, M. A.; Ahmed, K.; Uddin, M. S.; Hossain, T.; Papri, N. & Islam, T. (2021), „Proton Exchange Membrane Fuel Cell (PEMFC) Durability Factors, Challenges, and Future Perspectives: A Detailed Review“, *Material Science Research India*, 18(2), S. 217–234. <https://doi.org/10.13005/msri/180209>.

Hans et al. 2009

Hans, M.; Keul, H. & Moeller, M. (2009), „Ring-opening polymerization of DD-lactide catalyzed by Novozyme 435“, *Macromolecular bioscience*, 9(3), S. 239–247. <https://doi.org/10.1002/mabi.200800236>.

Herbst et al. 2013

Herbst, F.; Döhler, D.; Michael, P. & Binder, W. H. (2013), „Self-healing polymers

via supramolecular forces“, *Macromolecular Rapid Communications*, 34(3), S. 203–220. <https://doi.org/10.1002/marc.201200675>.

Hermanson 2013

Hermanson, G. T. (2013), *Bioconjugate techniques*, Academic Press an imprint of Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg. ISBN: 9780123822390.

Hess & Brand 1964

Hess, B. & Brand, K. (Hrsg.) (1964), *Grundlagen der Bestimmung von Enzymaktivitäten*, Springer Link.

Hevilla et al. 2021

Hevilla, V.; Sonseca, A.; Echeverría, C.; Muñoz-Bonilla, A. & Fernández-García, M. (2021), „Enzymatic Synthesis of Polyesters and Their Bioapplications: Recent Advances and Perspectives“, *Macromolecular bioscience*, 21(10), e2100156. <https://doi.org/10.1002/mabi.202100156>.

Höhne et al. 1996

Höhne, G.; Hemminger, W. & Flammersheim, H. J. (1996), *Differential Scanning Calorimetry: An Introduction for Practitioners*, Springer-Verlag. ISBN: 9783540590125.

Holleman & Wiberg 2008

Holleman, A. F. & Wiberg, E. (2008), *Lehrbuch der anorganischen Chemie*, De Gruyter, Berlin. ISBN: 978-3-11-017770-1.

Honekamp 2008

Honekamp, W. (2008), *Concept development & experimentation. Erfahrungen aus der praktischen Anwendung der Methode zur Transformation von Streitkräften*, Re-Di-Roma-Verl., Remscheid. ISBN: 978-3-86870-014-5.

Hoshi & Yoshida 2014

Hoshi, N. & Yoshida, T., *Immobilized enzyme*(2014), JP2014233256A.

Huang et al. 2013

Huang, B. T.; Chatillon, Y.; Bonnet, C.; Lapique, F.; Leclerc, S.; Hinaje, M. & Raël, S. (2013), „Experimental investigation of pinhole effect on MEA/cell aging in PEMFC“, *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(1), S. 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.09.058>.

Huang et al. 2022

Huang, Y.; Shi, Z.; Wang, H.; Wang, J. & Xue, Z. (2022), „Shape-memory and self-healing polyurethane-based solid polymer electrolytes constructed from polycaprolactone segment and disulfide metathesis“, *Energy Storage Materials*, 51, S. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ensm.2022.06.021>.

Huang et al. 2014

Huang, X.; Bolen, M. J. & Zacharia, N. S. (2014), „Silver nanoparticle aided self-healing of polyelectrolyte multilayers“, *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, 16(22), S. 10267–10273. <https://doi.org/10.1039/C4CP00349G>.

Illanes 2008

Illanes, A. (2008), *Enzyme Biocatalysis: Principles and Applications*, SPRINGER. ISBN: 978-1-4020-8360-0.

Jaeger et al. 2018

Jaeger, K.-E.; Liese, A. & Syldatk, C. (Hrsg.) (2018), *Einführung in die Enzymtechnologie*, Springer Spektrum, Berlin. ISBN: 9783662576199.

Jaeger et al. 2018

Jaeger, K.-E.; Liese, A. & Syldatk, C. (Hrsg.) (2018), *Enzymimmobilisierung*, Springer Berlin Heidelberg. ISBN: 978-3-662-57618-2.

James et al. 2007

James, J. J.; Lakshmi, B. S.; Seshasayee, A. S. N. & Gautam, P. (2007), „Activation of Candida rugosa lipase at alkane-aqueous interfaces: a molecular dynamics study“, *FEBS letters*, 581(23), S. 4377–4383. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.08.002>.

Jbeily et al. 2017

Jbeily, M.; Schwieger, C. & Kressler, J. (2017), „Mixed Langmuir monolayers of perfluorostearic acid and stearic acid studied by epifluorescence microscopy using fluorinated rhodamines and infrared reflection absorption spectroscopy (IRRAS)“, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 529, S. 274–285. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.06.004>.

Jenne et al. 2022

Jenne, M.; Jörissen, L. & Schilling, M. (2022), *Wissen Kompakt: Potenziale in der*

Wasserstoff-Tankstellentechnologie, Zentrum für Sonnenenergie- und Wasserstoff-Forschung Baden-Württemberg, Ulm, & IGT Industrie Gase Technik GmbH, Ühlingen-Birkendorf. https://www.zsw-bw.de/fileadmin/user_upload/Wissen_Kompakt_Potenziale_in_der_Wasserstoff-Tankstellentechnologie.pdf [03.03.2024].

Jiang et al. 2015

Jiang, Y.; Woortman, A. J. J.; van Alberda Ekenstein, G. O. R. & Loos, K. (2015), „A biocatalytic approach towards sustainable furanic–aliphatic polyesters“, *Polymer Chemistry*, 6(29), S. 5198–5211. <https://doi.org/10.1039/C5PY00629E>.

Jo et al. 2020

Jo, Y. H.; Li, S.; Zuo, C.; Zhang, Y.; Gan, H.; Li, S.; Yu, L.; He, D.; Xie, X. & Xue, Z. (2020), „Self-Healing Solid Polymer Electrolyte Facilitated by a Dynamic Cross-Linked Polymer Matrix for Lithium-Ion Batteries“, *Macromolecules*, 53(3), S. 1024–1032. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.9b02305>.

Jones et al. 2016

Jones, R. G.; Ober, C. K.; Hodge, P.; Kratochvíl, P.; Moad, G. & Vert, M. (2016), „Source-Based Nomenclature for Single-Strand Homopolymers and Copolymers (IUPAC Recommendations 2016)“, *Pure and Applied Chemistry*(88). <https://doi.org/10.1515/iupac.88.1525>.

Jud et al. 1981

Jud, K.; Kausch, H. H. & Williams, J. G. (1981), „Fracture mechanics studies of crack healing and welding of polymers“, *Journal of Materials Science*, 16(1), S. 204–210. <https://doi.org/10.1007/BF00552073>.

Jung et al. 2017

Jung, A.; Im Kong, M.; Yun, C. Y. & Kim, M. S. (2017), „Characteristics of hydrogen crossover through pinhole in polymer electrolyte membrane fuel cells“, *Journal of Membrane Science*, 523, S. 138–143. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2016.09.009>.

Kamal et al. 2007

Kamal, H.; Sabry, G. M.; Lotfy, S.; Abdallah, N. M.; Rosiak, J. & Hegazy, E. A. (2007), „Immobilization of Glucoamylase on Polypropylene Fibers Modified by Radiation Induced Graft Copolymerization“, *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 45(1), S. 65–75. <https://doi.org/10.1080/10601320701683322>.

Kampker et al. 2023

Kampker, A.; Heimes, H.; Kehrer, M.; Hagedorn, S.; Reims, P. & Kaul, O. (2023), „Fuel cell system production cost modeling and analysis“, *Energy Reports*, 9, S. 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2022.10.364>.

Katzenberg et al. 2021

Katzenberg, A.; Angulo, A.; Kusoglu, A. & Modestino, M. A. (2021), „Impacts of Organic Sorbates on the Ionic Conductivity and Nanostructure of Perfluorinated Sulfonic-Acid Ionomers“, *Macromolecules*, 54(11), S. 5187–5195.
<https://doi.org/10.1021/acs.macromol.1c00494>.

Klell et al. 2018

Klell, M.; Eichlseder, H. & Trattner, A. (2018), *Wasserstoff in der Fahrzeugtechnik. Erzeugung, Speicherung, Anwendung*, Springer Vieweg, Wiesbaden. ISBN: 978-3-658-20446-4.

Knani et al. 1993

Knani, D.; Gutman, A. L. & Kohn, D. H. (1993), „Enzymatic polyesterification in organic media. Enzyme-catalyzed synthesis of linear polyesters. I. Condensation polymerization of linear hydroxyesters. II. Ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone“, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 31(5), S. 1221–1232. <https://doi.org/10.1002/pola.1993.080310518>.

Kobayashi et al. 2001

Kobayashi, S.; Uyama, H. & Kimura, S. (2001), „Enzymatic polymerization“, *Chemical reviews*, 101(12), S. 3793–3818. <https://doi.org/10.1021/cr990121l>.

Kobayashi & Makino 2009

Kobayashi, S. & Makino, A. (2009), „Enzymatic polymer synthesis: an opportunity for green polymer chemistry“, *Chemical reviews*, 109(11), S. 5288–5353.
<https://doi.org/10.1021/cr900165z>.

Kobos et al. 1989

Kobos, R. K.; Eveleigh, J. W. & Arentzen, R. (1989), „A novel fluorocarbon-based immobilization technology“, *Trends in Biotechnology*, 7(4), S. 101–105.
[https://doi.org/10.1016/0167-7799\(89\)90008-5](https://doi.org/10.1016/0167-7799(89)90008-5).

Koda et al. 2014

Koda, Y.; Terashima, T. & Sawamoto, M. (2014), „Fluorous microgel star polymers: selective recognition and separation of polyfluorinated surfactants and compounds in water“, *Journal of the American Chemical Society*, 136(44), S. 15742–15748. <https://doi.org/10.1021/ja508818j>.

Kölmel et al. 2013

Kölmel, D. K.; Rudat, B.; Braun, D. M.; Bednarek, C.; Schepers, U. & Bräse, S. (2013), „Rhodamine F: a novel class of fluorous ponytailed dyes for bioconjugation“, *Organic & biomolecular chemistry*, 11(24), S. 3954–3962. <https://doi.org/10.1039/C3OB40267C>.

Koltzenburg et al. 2014

Koltzenburg, S.; Maskos, M. & Nuyken, O. (2014), *Polymere: Synthese, Eigenschaften und Anwendungen*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.

Konwar & Sagar 2018

Konwar, B. K. & Sagar, K. (2018), *Lipase. An industrial enzyme through metagenomics*, Apple Academic Press, Oakville, ON, Waretown, NJ. ISBN: 978-1-77188-618-5.

Kredel, J. 2021

Kredel, J. (2021), *Synthese abbaubarer fluorierter Polymerarchitekturen zur Anwendung als funktionale Beschichtungen und responsive Materialien*, UNSPECIFIED. <https://doi.org/10.26083/tuprints-00017593>.

Kreitmeier et al. 2013

Kreitmeier, S.; Lerch, P.; Wokaun, A. & Büchi, F. N. (2013), „Local Degradation at Membrane Defects in Polymer Electrolyte Fuel Cells“, *Journal of The Electrochemical Society*, 160(4). <https://doi.org/10.1149/1.023306jes>.

Kulkarni et al. 2019

Kulkarni, N.; Kok, M. D.; Jervis, R.; Iacoviello, F.; Meyer, Q.; Shearing, P. R. & Brett, D. J. (2019), „The effect of non-uniform compression and flow-field arrangements on membrane electrode assemblies - X-ray computed tomography characterisation and effective parameter determination“, *Journal of Power Sources*, 426, S. 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2019.04.018>.

Kumar et al. 2016

Kumar, A.; Dhar, K.; Kanwar, S. S. & Arora, P. K. (2016), „Lipase catalysis in organic solvents: advantages and applications“, *Biological procedures online*, 18(2). <https://doi.org/10.1186/s12575-016-0033-2>.

Kumar & Gross 2000

Kumar, A. & Gross, R. A. (2000), „Candida antarctica lipase B catalyzed polycaprolactone synthesis: effects of organic media and temperature“, *Biomacromolecules*, 1(1), S. 133–138. <https://doi.org/10.1021/bm990510p>.

Kumarasamy et al. 2020

Kumarasamy, E.; Manning, I. M.; Collins, L. B.; Coronell, O. & Leibfarth, F. A. (2020), „Ionic Fluorogels for Remediation of Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances from Water“, *ACS central science*, 6(4), S. 487–492. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.9b01224>.

Kundys et al. 2018

Kundys, A.; Białecka-Florjańczyk, E.; Fabiszewska, A. & Małajowicz, J. (2018), „Candida antarctica Lipase B as Catalyst for Cyclic Esters Synthesis, Their Polymerization and Degradation of Aliphatic Polyesters“, *Journal of Polymers and the Environment*, 26(1), S. 396–407. <https://doi.org/10.1007/s10924-017-0945-1>.

Kurzweil 2013

Kurzweil, P. (2013), *Brennstoffzellentechnik. Grundlagen, Komponenten, Systeme, Anwendungen*, Springer Vieweg, Wiesbaden. ISBN: 978-3-658-00084-4.

Kurzweil & Schmid 2016

Kurzweil, P. & Schmid, O. (2016), *Brennstoffzellentechnik. Grundlagen, Materialien, Anwendungen, Gaserzeugung*, Springer Vieweg, Wiesbaden. ISBN: 978-3-658-14934-5.

Kusoglu & Weber 2017

Kusoglu, A. & Weber, A. Z. (2017), „New Insights into Perfluorinated Sulfonic-Acid Ionomers“, *Chemical reviews*, 117(3), S. 987–1104. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00159>.

Kusoglu & Weber 2015

Kusoglu, A. & Weber, A. Z. (2015), „Electrochemical/Mechanical Coupling in Ion-

Conducting Soft Matter“, *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 6(22), S. 4547–4552. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcllett.5b01639>.

Labet & Thielemans 2009

Labet, M. & Thielemans, W. (2009), „Synthesis of polycaprolactone: a review“, *Chemical Society Reviews*, 38(12), S. 3484. <https://doi.org/10.1039/b820162p>.

Lambert & Marsmann 2012

Lambert, J. B. & Marsmann, H. (2012), *Spektroskopie Strukturaufklärung in der Organischen Chemie*, Pearson Studium. ISBN: 978-3-86326-537-3.

Lee et al. 2011

Lee, H.; Kim, T.; Sim, W.; Kim, S.; Ahn, B.; Lim, T. & Park, K. (2011), „Pinhole formation in PEMFC membrane after electrochemical degradation and wet/dry cycling test“, *Korean Journal of Chemical Engineering*, 28(2), S. 487–491. <https://doi.org/10.1007/s11814-010-0381-6>.

Lehmann 2014

Lehmann, J. (2014), *Wasserstoff und Brennstoffzellen*, Springer Berlin Heidelberg. ISBN: 978-3-642-34667-5.

Lei et al. 2020

Lei, X.; Huang, Y.; Liang, S.; Zhao, X. & Liu, L. (2020), „Preparation of highly transparent, room-temperature self-healing and recyclable silicon elastomers based on dynamic imine bond and their ion responsive properties“, *Materials Letters*, 268, S. 127598. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.127598>.

Li et al. 2017

Li, B.-Y.; Juang, D. S.; Adak, A. K.; Hwang, K.-C. & Lin, C.-C. (2017), „Fabrication of a protein microarray by fluororous-fluororous interactions“, *Scientific reports*, 7(1), S. 7053. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07571-4>.

Li et al. 2018a

Li, C.; Klemes, M. J.; Dichtel, W. R. & Helbling, D. E. (2018), „Tetrafluoroterephthalonitrile-crosslinked β -cyclodextrin polymers for efficient extraction and recovery of organic micropollutants from water“, *Journal of chromatography. A*, 1541, S. 52–56. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.02.012>.

Li et al. 2018b

Li, G.; Chen, Y.; Fang, X.; Su, F.; Xu, L. & Yan, Y. (2018), „Identification of a hot-

spot to enhance *Candida rugosa* lipase thermostability by rational design methods“, *RSC advances*, 8(4), S. 1948–1957. <https://doi.org/10.1039/c7ra11679a>.

Li et al. 2016a

Li, C.-H.; Wang, C.; Keplinger, C.; Zuo, J.-L.; Jin, L.; Sun, Y.; Zheng, P.; Cao, Y.; Lissel, F.; Linder, C.; You, X.-Z. & Bao, Z. (2016), „A highly stretchable autonomous self-healing elastomer“, *Nature chemistry*, 8(6), S. 618–624. <https://doi.org/10.1038/nchem.2492>.

Li et al. 2020a

Li, Y.; Li, Z.; Wang, W. & Sun, J. (2020), „Self-healing and highly elastic fluorine-free proton exchange membranes comprised of poly(vinyl alcohol) derivative and phytic acid for durable fuel cells“, *Science China Materials*, 63(7), S. 1235–1246. <https://doi.org/10.1007/s40843-020-1308-y>.

Li et al. 2020b

Li, P.; Zhong, Y.; Wang, X. & Hao, J. (2020), „Enzyme-Regulated Healable Polymeric Hydrogels“, *ACS central science*, 6(9), S. 1507–1522. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00768>.

Li et al. 2016b

Li, Y.; Fang, X.; Wang, Y.; Ma, B. & Sun, J. (2016), „Highly Transparent and Water-Enabled Healable Antifogging and Frost-Resisting Films Based on Poly(vinyl alcohol)–Nafion Complexes“, *Chemistry of Materials*, 28(19), S. 6975–6984. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b02684>.

Li et al. 2018c

Li, Y.; Liang, L.; Liu, C.; Li, Y.; Xing, W. & Sun, J. (2018), „Self-Healing Proton-Exchange Membranes Composed of Nafion-Poly(vinyl alcohol) Complexes for Durable Direct Methanol Fuel Cells“, *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 30(25), e1707146. <https://doi.org/10.1002/adma.201707146>.

Lim et al. 2021

Lim, B. H.; Majlan, E. H.; Tajuddin, A.; Husaini, T.; Wan Daud, W. R.; Mohd Radzuan, N. A. & Haque, M. A. (2021), „Comparison of catalyst-coated membranes

and catalyst-coated substrate for PEMFC membrane electrode assembly: A review", *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 33(4), S. 1–16.

<https://doi.org/10.1016/j.cjche.2020.07.044>.

Lin & Li 2018

Lin, C.-C. & Li, B.-Y., *Fluorous compound, method of preparing fluorous tagged protein, and method of immobilizing protein*(2018), US2018356415A1.

Liu et al. 2016

Liu, L.; Chen, W. & Li, Y. (2016), „An overview of the proton conductivity of nafion membranes through a statistical analysis“, *Journal of Membrane Science*, 504, S. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.12.065>.

Liu et al. 2019

Liu, X.; Li, Y.; Xue, J.; Zhu, W.; Zhang, J.; Yin, Y.; Qin, Y.; Jiao, K.; Du, Q.; Cheng, B.; Zhuang, X.; Li, J. & Guiver, M. D. (2019), „Magnetic field alignment of stable proton-conducting channels in an electrolyte membrane“, *Nature communications*, 10(1), S. 842. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08622-2>.

Liu et al. 2023

Liu, C.; Wrubel, J.; Padgett, E. & Bender, G. (2023), „The impacts of membrane pinholes on PEM water electrolysis“, *Journal of Power Sources*, 581, S. 233507. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2023.233507>.

Liu et al. 2006

Liu, H.; Zhang, J.; Coms, F.; Gu, W.; Litteer, B. & Gasteiger, H. A. (2006), „Impact of Gas Partial Pressure on PEMFC Chemical Degradation“, *ECS Transactions*, 3(1), S. 493–505. <https://doi.org/10.1149/1.2356171>.

Liu et al. 2018

Liu, X.; Riess, J. G. & Krafft, M. P. (2018), „Self-Organization of Semifluorinated Alkanes and Related Compounds at Interfaces: Thin Films, Surface Domains and Two-Dimensional Spherulites“, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 91(5), S. 846–857. <https://doi.org/10.1246/bcsj.20170431>.

Liu et al. 2022

Liu, C.; Wrubel, J. A.; Padgett, E. & Bender, G. (2022), „The Impacts of Membrane Pinholes on Performance and Hydrogen Crossover in PEM Water Electrolysis“,

ECS Meeting Abstracts, MA2022-02(44), S. 1664.

<https://doi.org/10.1149/MA2022-02441664mtgabs>.

Liu et al. 2020

Liu, Y.; Song, L.; Feng, N.; Jiang, W.; Jin, Y. & Li, X. (2020), „Recent advances in the synthesis of biodegradable polyesters by sustainable polymerization: lipase-catalyzed polymerization“, *RSC advances*, 10(59), S. 36230–36240.

<https://doi.org/10.1039/D0RA07138B>.

Long et al. 2018

Long, T.; Li, Y.; Fang, X. & Sun, J. (2018), „Salt-Mediated Polyampholyte Hydrogels with High Mechanical Strength, Excellent Self-Healing Property, and Satisfactory Electrical Conductivity“, *Advanced Functional Materials*, 28(44).

<https://doi.org/10.1002/adfm.201804416>.

Loos & Stadler 1997

Loos, K. & Stadler, R. (1997), „Synthesis of Amylose- block -polystyrene Rod–Coil Block Copolymers“, *Macromolecules*, 30(24), S. 7641–7643.

<https://doi.org/10.1021/ma971022h>.

Mahmoudi et al. 2016

Mahmoudi, A. H.; Ramiar, A. & Esmaili, Q. (2016), „Effect of inhomogeneous compression of gas diffusion layer on the performance of PEMFC with interdigitated flow field“, *Energy Conversion and Management*, 110, S. 78–89.

<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2015.12.012>.

Maiti et al. 2022

Maiti, T. K.; Singh, J.; Dixit, P.; Majhi, J.; Bhushan, S.; Bandyopadhyay, A. & Chattopadhyay, S. (2022), „Advances in perfluorosulfonic acid-based proton exchange membranes for fuel cell applications: A review“, *Chemical Engineering Journal Advances*, 12. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.100372>.

Mark 2007

Mark, J. E. (2007), *Physical properties of polymers handbook*, Springer Science+Business Media LLC, New York, NY. ISBN: 978-0-387-31235-4.

Matsumura et al. 1997

Matsumura, S.; Mabuchi, K. & Toshima, K. (1997), „Lipase-catalyzed ring-opening

polymerization of lactide“, *Macromolecular Rapid Communications*, 18(6), S. 477–482. <https://doi.org/10.1002/marc.1997.030180604>.

Mauritz & Moore 2004

Mauritz, K. A. & Moore, R. B. (2004), „State of understanding of nafion“, *Chemical reviews*, 104(10), S. 4535–4585. <https://doi.org/10.1021/cr0207123>.

Mayr et al. 2021

Mayr, K.; Hofer, F.; Ragowsky, G.; Gruber, W. & Arnberge, A. (2021), „Systemvergleich zwischen Wasserstoff-Systemvergleich zwischen Wasserstoffverbrennungsmotor und Brennstoffzelle im schweren Nutzfahrzeug. Eine technische und ökonomische Analyse zweier Antriebskonzepte“.

Mei et al. 2002

Mei, Y.; Kumar, A. & Gross, R. A. (2002), „Probing Water-Temperature Relationships for Lipase-Catalyzed Lactone Ring-Opening Polymerizations“, *Macromolecules*, 35(14), S. 5444–5448. <https://doi.org/10.1021/ma020019h>.

Mekhilef et al. 2012

Mekhilef, S.; Saidur, R. & Safari, A. (2012), „Comparative study of different fuel cell technologies“, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1), S. 981–989. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.09.020>.

Melo et al. 2021

Melo, J. S.; Tripathi, A.; Kumar, J.; Mishra, A.; Sandaka, B. P. & Bhainsa, K. C. (2021), „Immobilization: Then and Now“, *Immobilization Strategies*, S. 1–84. https://doi.org/10.1007/978-981-15-7998-1_1.

Mesiano et al. 2000

Mesiano, A. J.; Beckman, E. J. & Russell, A. J. (2000), „Biocatalytic synthesis of fluorinated polyesters“, *Biotechnology progress*, 16(1), S. 64–68. <https://doi.org/10.1021/bp990138p>.

Miletić et al. 2010

Miletić, N.; Loos, K. & Gross, R. A. (2010), „Enzymatic Polymerization of Polyester“, *Biocatalysis in Polymer Chemistry*, S. 83–129. <https://doi.org/10.1002/9783527632534.ch4>.

Morales-Huerta et al. 2017

Morales-Huerta, J. C.; Ilarduya, A. M. de & Muñoz-Guerra, S. (2017), „A green

strategy for the synthesis of poly(ethylene succinate) and its copolyesters via enzymatic ring opening polymerization“, *European Polymer Journal*, 95, S. 514–519. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.08.043>.

Moro et al. 2022

Moro, G.; Dongmo Fomthum, C. J.; Spinaci, M.; Martini, E.; Cimino, D.; Balliana, E.; Lieberzeit, P.; Romano, F.; Giacometti, A.; Campos, R.; Wael, K. de & Moretto, L. M. (2022), „How perfluoroalkyl substances modify fluorinated self-assembled monolayer architectures: An electrochemical and computational study“, *Analytica chimica acta*, 1204. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339740>.

Nelson & Griffin 1916

Nelson, J. M. & Griffin, E. G. (1916), „Adsorption of Invertase“, *Journal of the American Chemical Society*, 38(5), S. 1109–1115. <https://doi.org/10.1021/ja02262a018>.

Nguyen et al. 2021

Nguyen, H. L.; Han, J.; Nguyen, X. L.; Yu, S.; Goo, Y.-M. & Le, D. D. (2021), „Review of the Durability of Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cell in Long-Term Operation: Main Influencing Parameters and Testing Protocols“, *Energies*, 14(13). <https://doi.org/10.3390/en14134048>.

Nguyen & Kim 2017

Nguyen, H. H. & Kim, M. (2017), „An Overview of Techniques in Enzyme Immobilization“, *Applied Science and Convergence Technology*, 26(6), S. 157–163. <https://doi.org/10.5757/ASCT.2017.26.6.157>.

Nicolás et al. 2023

Nicolás, P.; Lassalle, V. L. & Ferreira, M. L. (2023), „Evaluation of biocatalytic pathways in the synthesis of polyesters: Towards a greener production of surgical sutures“, *Polymers for Advanced Technologies*, 34(1), S. 64–78. <https://doi.org/10.1002/pat.5900>.

Niu et al. 2014

Niu, H.; Wang, S.; Zhou, Z.; Ma, Y.; Ma, X. & Cai, Y. (2014), „Sensitive colorimetric

visualization of perfluorinated compounds using poly(ethylene glycol) and perfluorinated thiols modified gold nanoparticles“, *Analytical chemistry*, 86(9), S. 4170–4177. <https://doi.org/10.1021/ac403406d>.

Ogungbemi et al. 2019

Ogungbemi, E.; Ijaodola, O.; Khatib, F. N.; Wilberforce, T.; El Hassan, Z.; Thompson, J.; Ramadan, M. & Olabi, A. G. (2019), „Fuel cell membranes – Pros and cons“, *Energy*, 172, S. 155–172. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.01.034>.

Oh et al. 2016

Oh, J. Y.; Rondeau-Gagné, S.; Chiu, Y.-C.; Chortos, A.; Lissel, F.; Wang, G.-J. N.; Schroeder, B. C.; Kurosawa, T.; Lopez, J.; Katsumata, T.; Xu, J.; Zhu, C.; Gu, X.; Bae, W.-G.; Kim, Y.; Jin, L.; Chung, J. W.; Tok, J. B.-H. & Bao, Z. (2016), „Intrinsically stretchable and healable semiconducting polymer for organic transistors“, *Nature*, 539(7629), S. 411–415. <https://doi.org/10.1038/nature20102>.

Okur et al. 2013

Okur, O.; İyigün Karadağ, Ç.; Boyacı San, F. G.; Okumuş, E. & Behmenyar, G. (2013), „Optimization of parameters for hot-pressing manufacture of membrane electrode assembly for PEM (polymer electrolyte membrane fuel cells) fuel cell“, *Energy*, 57, S. 574–580. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.05.001>.

Ortiz et al. 2019

Ortiz, C.; Ferreira, M. L.; Barbosa, O.; dos Santos, J. C. S.; Rodrigues, R. C.; Berenguer-Murcia, Á.; Briand, L. E. & Fernandez-Lafuente, R. (2019), „Novozym 435: the “perfect” lipase immobilized biocatalyst?“, *Catalysis Science & Technology*(9).

Pagliaro & Meneguzzo 2019

Pagliaro, M. & Meneguzzo, F. (2019), „The driving power of the electron“, *Journal of Physics: Energy*, 1(1), S. 11001. <https://doi.org/10.1088/2515-7655/aacd9f>.

Palsule & Poojari 2010

Palsule, A. S. & Poojari, Y. (2010), „Enzymatic synthesis of silicone fluorinated aliphatic polyesteramides“, *Polymer*, 51(26), S. 6161–6167. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2010.09.043>.

Patil et al. 2010

Patil, Y. P.; Jarrett, W. L. & Mauritz, K. A. (2010), „Deterioration of mechanical

properties: A cause for fuel cell membrane failure“, *Journal of Membrane Science*, 356(1-2), S. 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.02.060>.

Patrick et al. 2014

Patrick, J. F.; Hart, K. R.; Krull, B. P.; Diesendruck, C. E.; Moore, J. S.; White, S. R. & Sottos, N. R. (2014), „Continuous Self-Healing Life Cycle in Vascularized Structural Composites“, *Advanced Materials*, 26(25), S. 4302–4308. <https://doi.org/10.1002/adma.201400248>.

Pauling ca. 2010

Pauling, L. (ca. 2010), *The nature of the chemical bond and the structure of molecules and crystals. An introduction to modern structural chemistry*, Cornell Univ. Press, Ithaca, NY. ISBN: 0801403332.

Peacock 2000

Peacock, A. (2000), *Handbook of Polyethylene. Structures: Properties, and Applications*, CRC Press, Boca Raton, FL. ISBN: 9781482295467.

Pérez-Venegas et al. 2020

Pérez-Venegas, M.; Tellez-Cruz, M. M.; Solorza-Feria, O.; López-Munguía, A.; Castillo, E. & Juaristi, E. (2020), „Thermal and Mechanical Stability of Immobilized *Candida antarctica* Lipase B: an Approximation to Mechanochemical Energetics in Enzyme Catalysis“, *ChemCatChem*, 12(3), S. 803–811. <https://doi.org/10.1002/cctc.201901714>.

Peron et al. 2010

Peron, J.; Mani, A.; Zhao, X.; Edwards, D.; Adachi, M.; Soboleva, T.; Shi, Z.; Xie, Z.; Navessin, T. & Holdcroft, S. (2010), „Properties of Nafion® NR-211 membranes for PEMFCs“, *Journal of Membrane Science*, 356(1-2), S. 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.03.025>.

Peters 1963

Peters, D. (1963), „Problem of the Lengths and Strengths of Carbon—Fluorine Bonds“, *The Journal of chemical physics*, 38(2), S. 561–563. <https://doi.org/10.1063/1.1733694>.

Phillips et al. 2018

Phillips, A.; Ulsh, M.; Neyerlin, K. C.; Porter, J. & Bender, G. (2018), „Impacts of

electrode coating irregularities on polymer electrolyte membrane fuel cell lifetime using quasi in-situ infrared thermography and accelerated stress testing“, *International Journal of Hydrogen Energy*, 43(12), S. 6390–6399.

<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.02.050>.

Pitzer 1960

Pitzer, K. S. (1960), „The Nature of the Chemical Bond and the Structure of Molecules and Crystals: An Introduction to Modern Structural Chemistry“, *Journal of the American Chemical Society*, 82(15), S. 4121. <https://doi.org/10.1021/ja01500a088>.

Polaina & MacCabe 2007

Polaina, J. & MacCabe, A. P. (Hrsg.) (2007), *Industrial Enzymes. Structure, Function and Applications*, Springer Netherlands, Dordrecht. ISBN: 978-1-4020-5376-4.

Pollet et al. 2019

Pollet, B. G.; Kocha, S. S. & Staffell, I. (2019), „Current status of automotive fuel cells for sustainable transport“, *Current Opinion in Electrochemistry*, 16, S. 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2019.04.021>.

Poojari & Clarson 2013

Poojari, Y. & Clarson, S. J. (2013), „Thermal stability of Candida antarctica lipase B immobilized on macroporous acrylic resin particles in organic media“, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2(1), S. 7–11.

<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2012.10.002>.

Prakash et al. 2009

Prakash, S.; Mustain, W. E. & Kohl, P. A. (2009), „Electrolytes for Long-Life, Ultra Low-Power Direct Methanol Fuel Cells“, *Micro Fuel Cells*, S. 1–50.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374713-6.00001-9>.

Qian et al. 2015

Qian, C.; Chen, H.; Ren, L. & Luo, M. (2015), „Self-healing of early age cracks in cement-based materials by mineralization of carbonic anhydrase microorganism“, *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01225>.

Qiu et al. 2019

Qiu, D.; Peng, L.; Lai, X.; Ni, M. & Lehnert, W. (2019), „Mechanical failure and miti-

gation strategies for the membrane in a proton exchange membrane fuel cell“, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 113.

<https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109289>.

Quan et al. 2022

Quan, L.; Xin, Y.; Wu, X. & Ao, Q. (2022), „Mechanism of Self-Healing Hydrogels and Application in Tissue Engineering“, *Polymers*, 14(11).

<https://doi.org/10.3390/polym14112184>.

Quan et al. 2020

Quan, Q.; Wen, H.; Han, S.; Wang, Z.; Shao, Z. & Chen, M. (2020), „Fluorous-Core Nanoparticle-Embedded Hydrogel Synthesized via Tandem Photo-Controlled Radical Polymerization: Facilitating the Separation of Perfluorinated Alkyl Substances from Water“, *ACS applied materials & interfaces*, 12(21), S. 24319–24327.

<https://doi.org/10.1021/acsami.0c04646>.

Ramani et al. 2020

Ramani, D.; Singh, Y.; White, R. T.; Wegener, M.; Orfino, F. P.; Dutta, M. & Kjeang, E. (2020), „4D in situ visualization of mechanical degradation evolution in reinforced fuel cell membranes“, *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(16), S. 10089–10103. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.02.013>.

Rapp et al. 2012

Rapp, H. M.; Bacher, S.; Ahrens, A.; Rapp, W.; Kammerer, B.; Nienhaus, G. U. & Bannwarth, W. (2012), „Attachment of Proteins to Surfaces by Fluorous-Fluorous Interactions Restoring Their Structure and Activity“, *ChemPlusChem*, 77(12), S. 1066–1070. <https://doi.org/10.1002/cplu.201200234>.

Roempp-Redaktion & Jahn 2011

Roempp-Redaktion & Jahn, U. (2011), *Tetrahydrofuran*, Thieme Gruppe.
<https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-20-00931>

Román Santiago et al. 2023

Román Santiago, A.; Yin, S.; Elbert, J.; Lee, J.; Shukla, D. & Su, X. (2023), „Imparting Selective Fluorophilic Interactions in Redox Copolymers for the Electrochemically Mediated Capture of Short-Chain Perfluoroalkyl Substances“, *Journal*

of the American Chemical Society, 145(17), S. 9508–9519.

<https://doi.org/10.1021/jacs.2c10963>.

Romero-Sabat et al. 2021

Romero-Sabat, G.; Gago-Benedí, E.; Roa Rovira, J. J.; González-Gálvez, D.; Mateo, A.; Medel, S. & Tolentino Chivite, A. (2021), „Development of a highly efficient extrinsic and autonomous self-healing polymeric system at low and ultra-low temperatures for high-performance applications“, *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 145. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2021.106335>.

Runge et al. 2000

Runge, M.; O'Hagan, D. & Haufe, G. (2000), „Lipase-catalyzed polymerization of fluorinated lactones and fluorinated hydroxycarboxylic acids“, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 38(11), S. 2004–2012.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0518\(20000601\)38:11<2004::AID-POLA90>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0518(20000601)38:11<2004::AID-POLA90>3.0.CO;2-T).

Saunders & Brask 2010

Saunders, P. & Brask, J. (2010), „Improved immobilization supports for *Candida antarctica* lipase B“, *Biocatalysis in Polymer Chemistry*, S. 65–82.

<https://doi.org/10.1002/9783527632534>.

Schäfer & Eschner 2019

Schäfer, J. & Eschner, N. (2019), *Projektsteckbrief EMSigBZ – Entwicklung eines modularen und skalierbaren Produktionssystems zur Herstellung von Brennstoffzellenstacks*, unveröffentlicht.

Schmidt et al. 2023

Schmidt, D.; Gartner, P.; Berezkin, I.; Rudat, J.; Bilger, M.; Grünert, T.; Zimmerer, N.; Quarz, P.; Scharfer, P.; Brückel, J.; Jung, A. P.; Singh, P.; Pooja, P.; Meier, B.; Stahlberger, M.; Schabel, W.; Bräse, S.; Lanza, G. & Nesterov-Mueller, A. (2023), „Selective Peptide Binders to the Perfluorinated Sulfonic Acid Ionomer Nafion“, *Advanced Functional Materials*. <https://doi.org/10.1002/adfm.202214932>.

Schmittinger & Vahidi 2008

Schmittinger, W. & Vahidi, A. (2008), „A review of the main parameters influencing long-term performance and durability of PEM fuel cells“, *Journal of Power Sources*, 180(1), S. 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2008.01.070>.

Seyednejad et al. 2011

Seyednejad, H.; Ghassemi, A. H.; van Nostrum, C. F.; Vermonden, T. & Hennink, W. E. (2011), „Functional aliphatic polyesters for biomedical and pharmaceutical applications“, *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 152(1), S. 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.12.016>.

Shahgaldian et al. 2019

Shahgaldian et al., P., *Biokatalytische Zusammensetzung*(2019), EP 3 027 750 B1.

Sharma & Kanwar 2014

Sharma, S. & Kanwar, S. S. (2014), „Organic solvent tolerant lipases and applications“, *TheScientificWorldJournal*, 2014, S. 625258.
<https://doi.org/10.1155/2014/625258>.

Shetty et al. 2020

Shetty, D.; Jahović, I.; Skorjanc, T.; Erkal, T. S.; Ali, L.; Raya, J.; Asfari, Z.; Olson, M. A.; Kirmizialtin, S.; Yazaydin, A. O. & Trabolsi, A. (2020), „Rapid and Efficient Removal of Perfluorooctanoic Acid from Water with Fluorine-Rich Calixarene-Based Porous Polymers“, *ACS applied materials & interfaces*, 12(38), S. 43160–43166. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c13400>.

Simon 2019

Simon, P. F. W. F. A. (2019), *Synthese, eigenschaften und verwendung polymerer werkstoffe*, Wiley-VCH, [Place of publication not identified]. ISBN: 978-3-527-33462-9.

Singh et al. 2018

Singh, R.; Sui, P. C.; Wong, K. H.; Kjeang, E.; Knights, S. & Djilali, N. (2018), „Modeling the Effect of Chemical Membrane Degradation on PEMFC Performance“, *Journal of The Electrochemical Society*, 165(6).
<https://doi.org/10.1149/2.0351806jes>.

Song et al. 2019

Song, F.; Li, Z.; Jia, P.; Zhang, M.; Bo, C.; Feng, G.; Hu, L. & Zhou, Y. (2019), „Tunable “soft and stiff”, self-healing, recyclable, thermadapt shape memory bio-mass polymers based on multiple hydrogen bonds and dynamic imine bonds“,

Journal of Materials Chemistry A, 7(21), S. 13400–13410.

<https://doi.org/10.1039/C9TA03872H>.

Staffell et al. 2019

Staffell, I.; Scamman, D.; Velazquez Abad, A.; Balcombe, P.; Dodds, P. E.; Ekins, P.; Shah, N. & Ward, K. R. (2019), „The role of hydrogen and fuel cells in the global energy system“, *Energy & Environmental Science*, 12(2), S. 463–491.

<https://doi.org/10.1039/C8EE01157E>.

Stradomska et al. 2021

Stradomska, D.; Heba, M.; Czernek, A.; Kuźnik, N.; Gillner, D.; Maresz, K.; Pudło, W.; Jarzębski, A. & Szymańska, K. (2021), „Lipase Immobilized on MCFs as Biocatalysts for Kinetic and Dynamic Kinetic Resolution of sec-Alcohols“, *Catalysts*, 11(4), S. 518. <https://doi.org/10.3390/catal11040518>.

Strzelczyk et al. 2016

Strzelczyk, P.; Bujacz, G. D.; Kiełbasiński, P. & Błaszczuk, J. (2016), „Crystal and molecular structure of hexagonal form of lipase B from *Candida antarctica*“, *Acta biochimica Polonica*, 63(1), S. 103–109. https://doi.org/10.18388/abp.2015_1065.

Subianto et al. 2013

Subianto, S.; Pica, M.; Casciola, M.; Cojocar, P.; Merlo, L.; Hards, G. & Jones, D. J. (2013), „Physical and chemical modification routes leading to improved mechanical properties of perfluorosulfonic acid membranes for PEM fuel cells“, *Journal of Power Sources*, 233, S. 216–230. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2012.12.121>.

Sun et al. 2020

Sun, X.; Shi, S.; Fu, Y.; Chen, J.; Lin, Q.; Hu, J.; Li, C.; Li, J. & Chen, X. (2020), „Embrittlement induced fracture behavior and mechanisms of perfluorosulfonic acid membranes after chemical degradation“, *Journal of Power Sources*, 453, S. 227893. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2020.227893>.

Talke et al. 2018

Talke, A.; Misch, U.; Konrad, G.; Heinzl, A.; Klemp, D. & Wegener, R. (2018), „Influence of urban air on proton exchange membrane fuel cell vehicles – Long term effects of air contaminants in an authentic driving cycle“, *Journal of Power Sources*, 400, S. 556–565. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2018.08.063>.

Talukdar et al. 2019

Talukdar, K.; Helmly, S.; Schulze, M.; Sanchez, D. G.; Handl, M.; Hiesgen, R.; Kraut, J. & Friedrich, K. A. (2019), „Enveloping of catalyst powder by ionomer for dry spray coating in polymer electrolyte membrane fuel cells“, *Journal of Power Sources*, 424, S. 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2019.03.093>.

Tampieri et al. 2021

Tampieri, A.; Szabó, M.; Medina, F. & Gulyás, H. (2021), „A brief introduction to the basics of NMR spectroscopy and selected examples of its applications to materials characterization“, *Physical Sciences Reviews*, 6(1).
<https://doi.org/10.1515/psr-2019-0086>.

Tang et al. 2021

Tang, Q.; Li, B.; Yang, D.; Ming, P.; Zhang, C. & Wang, Y. (2021), „Review of hydrogen crossover through the polymer electrolyte membrane“, *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(42), S. 22040–22061.
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.04.050>.

Todea et al. 2022

Todea, A.; Fortuna, S.; Ebert, C.; Asaro, F.; Tomada, S.; Cespugli, M.; Hollan, F. & Gardossi, L. (2022), „Rational Guidelines for the Two-Step Scalability of Enzymatic Polycondensation: Experimental and Computational Optimization of the Enzymatic Synthesis of Poly(glycerolazelate)“, *ChemSusChem*, 15(9).
<https://doi.org/10.1002/cssc.202102657>.

Töpler & Lehmann 2017

Töpler, J. & Lehmann, J. (Hrsg.) (2017), *Wasserstoff und Brennstoffzelle. Technologien und Marktperspektiven*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. ISBN: 978-3-662-53359-8.

Tothadi et al. 2013

Tothadi, S.; Joseph, S. & Desiraju, G. R. (2013), „Synthon Modularity in Cocrystals of 4-Bromobenzamide with n -Alkanedicarboxylic Acids: Type I and Type II Halogen···Halogen Interactions“, *Crystal Growth & Design*, 13(7), S. 3242–3254.
<https://doi.org/10.1021/cg400735f>.

UniProt 2023

UniProt (2023), „UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023“, *Nucleic acids research*, 51(D1), 523-531. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052>.

Uyama & Kobayashi 2006

Uyama, H. & Kobayashi, S. (2006), „Enzymatic Synthesis of Polyesters via Polycondensation“ in *Enzyme-Catalyzed Synthesis of Polymers*, Hrsg. S. Kobayashi, H. Ritter & D. Kaplan, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, S. 133–158.

van Schie et al. 2021

van Schie, M. M. C. H.; Spöring, J.-D.; Bocola, M.; Domínguez de María, P. & Rother, D. (2021), „Applied biocatalysis beyond just buffers - from aqueous to unconventional media. Options and guidelines“, *Green chemistry : an international journal and green chemistry resource : GC*, 23(9), S. 3191–3206.
<https://doi.org/10.1039/d1gc00561h>.

Varghese et al. 2006

Varghese, S.; Lele, A. & Mashelkar, R. (2006), „Metal-ion-mediated healing of gels“, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 44(1), S. 666–670.
<https://doi.org/10.1002/pola.21177>.

Wallace & Morrow 1989

Wallace, J. S. & Morrow, C. J. (1989), „Biocatalytic synthesis of polymers. Synthesis of an optically active, epoxy-substituted polyester by lipase-catalyzed polymerization“, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 27(8), S. 2553–2567. <https://doi.org/10.1002/pola.1989.080270807>.

Wallnöfer-Ogris et al. 2024

Wallnöfer-Ogris, E.; Poimer, F.; Köll, R.; Macherhammer, M.-G. & Trattner, A. (2024), „Main degradation mechanisms of polymer electrolyte membrane fuel cell stacks – Mechanisms, influencing factors, consequences, and mitigation strategies“, *International Journal of Hydrogen Energy*, 50, S. 1159–1182.
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2023.06.215>.

Wan et al. 2023

Wan, X.; Mu, T. & Yin, G. (2023), „Intrinsic Self-Healing Chemistry for Next-Generation Flexible Energy Storage Devices“, *Nano-Micro Letters*, 15(1), S. 99.
<https://doi.org/10.1007/s40820-023-01075-9>.

Wang et al. 2021

Wang, Y. X.; Guo, X.; Shi, S. W.; Weng, G. J.; Chen, G. & Lu, J. (2021), „Biaxial fatigue crack growth in proton exchange membrane of fuel cells based on cyclic cohesive finite element method“, *International Journal of Mechanical Sciences*, 189. <https://doi.org/10.1016/j.ijmecsci.2020.105946>.

Wang & Pan 2017

Wang, Z. & Pan, Q. (2017), „An Omni-Healable Supercapacitor Integrated in Dynamically Cross-Linked Polymer Networks“, *Advanced Functional Materials*, 27(24), S. 1700690. <https://doi.org/10.1002/adfm.201700690>.

Wang & Urban 2020

Wang, S. & Urban, M. W. (2020), „Self-healing polymers“, *Nature Reviews Materials*, 5(8), S. 562–583. <https://doi.org/10.1038/s41578-020-0202-4>.

Weber 2008

Weber, A. Z. (2008), „Gas-Crossover and Membrane-Pinhole Effects in Polymer-Electrolyte Fuel Cells“, *Journal of The Electrochemical Society*, 155(6). <https://doi.org/10.1149/1.2898130>.

Wegener et al. 2023

Wegener, K.; Damm, O.; Harst, S.; Ihlenfeldt, S.; Monostori, L.; Teti, R.; Wertheim, R. & Byrne, G. (2023), „Biologicalisation in manufacturing – Current state and future trends“, *CIRP Annals*, 72(2), S. 781–807. <https://doi.org/10.1016/j.cirp.2023.05.005>.

Wei et al. 2022

Wei, L.; Liao, Z.; Dafalla, A. M. & Jiang, F. (2022), „Performance Investigation of Proton-Exchange Membrane Fuel Cell with Dean Flow Channels“, *Energy Technology*, 10(3), S. 2100851. <https://doi.org/10.1002/ente.202100851>.

White et al. 2001

White, S. R.; Sottos, N. R.; Geubelle, P. H.; Moore, J. S.; Kessler, M. R.; Sriram, S. R.; Brown, E. N. & Viswanathan, S. (2001), „Autonomic healing of polymer composites“, *Nature*, 409(6822), S. 794–797. <https://doi.org/10.1038/35057232>.

Whiteley et al. 2015

Whiteley, J. M.; Taynton, P.; Zhang, W. & Lee, S.-H. (2015), „Ultra-thin Solid-State

Li-Ion Electrolyte Membrane Facilitated by a Self-Healing Polymer Matrix“, *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 27(43), S. 6922–6927.

<https://doi.org/10.1002/adma.201502636>.

Wiktor & Jonkers 2011

Wiktor, V. & Jonkers, H. M. (2011), „Quantification of crack-healing in novel bacteria-based self-healing concrete“, *Cement and Concrete Composites*, 33(7), S.

763–770. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2011.03.012>.

Wojtecki et al. 2011

Wojtecki, R. J.; Meador, M. A. & Rowan, S. J. (2011), „Using the dynamic bond to access macroscopically responsive structurally dynamic polymers“, *Nature Materials*, 10(1), S. 14–27. <https://doi.org/10.1038/nmat2891>.

Wu et al. 2008

Wu, R.; Al-Azemi, T. F. & Bisht, K. S. (2008), „Functionalized polycarbonate derived from tartaric acid: enzymatic ring-opening polymerization of a seven-membered cyclic carbonate“, *Biomacromolecules*, 9(10), S. 2921–2928.

<https://doi.org/10.1021/bm800696q>.

Wu et al. 2019

Wu, N.; Shi, Y.-R.; Lang, S.-Y.; Zhou, J.-M.; Liang, J.-Y.; Wang, W.; Tan, S.-J.; Yin, Y.-X.; Wen, R. & Guo, Y.-G. (2019), „Self-Healable Solid Polymeric Electrolytes for Stable and Flexible Lithium Metal Batteries“, *Angewandte Chemie International Edition*, 58(50), S. 18146–18149. <https://doi.org/10.1002/anie.201910478>.

Xiao et al. 2021

Xiao, Y.; Chen, Y.; Lu, R.; Wang, Y. & Wang, C. (2021), „Immobilization of *Candida rugosa* lipase (CRL) on a hierarchical magnetic zeolitic imidazole framework-8 for efficient biocatalysis“, *Biochemical Engineering Journal*, 175, S. 108120.

<https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108120>.

Xiao et al. 2019

Xiao, L.; Ching, C.; Ling, Y.; Nasiri, M.; Klemes, M. J.; Reineke, T. M.; Helbling, D. E. & Dichtel, W. R. (2019), „Cross-linker Chemistry Determines the Uptake Potential of Perfluorinated Alkyl Substances by β -Cyclodextrin Polymers“, *Macromolecules*, 52(10), S. 3747–3752. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.9b00417>.

Xie et al. 2004

Xie, J.; More, K. L.; Zawodzinski, T. A. & Smith, W. H. (2004), „Porosimetry of MEAs Made by “Thin Film Decal” Method and Its Effect on Performance of PEFCs“, *Electrochimica Acta*, 151(11), A1841. <https://doi.org/10.1149/1.1796991>.

Xing et al. 2021

Xing, Y.; Li, H. & Avgouropoulos, G. (2021), „Research Progress of Proton Exchange Membrane Failure and Mitigation Strategies“, *Materials (Basel, Switzerland)*, 14(10). <https://doi.org/10.3390/ma14102591>.

Yang & Urban 2013

Yang, Y. & Urban, M. W. (2013), „Self-healing polymeric materials“, *Chemical Society Reviews*, 42(17), S. 7446–7467. <https://doi.org/10.1039/C3CS60109A>.

Ying et al. 2014

Ying, H.; Zhang, Y. & Cheng, J. (2014), „Dynamic urea bond for the design of reversible and self-healing polymers“, *Nature Communications*, 5(1), S. 3218. <https://doi.org/10.1038/ncomms4218>.

Yong et al. 2008

Yong, Y.; Bai, Y.-X.; Li, Y.-F.; Lin, L.; Cui, Y.-J. & Xia, C.-G. (2008), „Characterization of *Candida rugosa* lipase immobilized onto magnetic microspheres with hydrophilicity“, *Process Biochemistry*, 43(11), S. 1179–1185. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.05.019>.

Yu et al. 2021

Yu, W.; Maynard, E.; Chiaradia, V.; Arno, M. C. & Dove, A. P. (2021), „Aliphatic Polycarbonates from Cyclic Carbonate Monomers and Their Application as Biomaterials“, *Chemical reviews*, 121(18), S. 10865–10907. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00883>.

Yuan et al. 2011

Yuan, X.-Z.; Li, H.; Zhang, S.; Martin, J. & Wang, H. (2011), „A review of polymer electrolyte membrane fuel cell durability test protocols“, *Journal of Power Sources*, 196(22), S. 9107–9116. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2011.07.082>.

Yue et al. 2021

Yue, M.; Lambert, H.; Pahon, E.; Roche, R.; Jemei, S. & Hissel, D. (2021), „Hydrogen energy systems: A critical review of technologies, applications, trends and challenges“, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 146, S. 111180.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111180>.

Zatoń et al. 2017

Zatoń, M.; Rozière, J. & Jones, D. J. (2017), „Current understanding of chemical degradation mechanisms of perfluorosulfonic acid membranes and their mitigation strategies: a review“, *Sustainable Energy & Fuels*, 1(3), S. 409–438.
<https://doi.org/10.1039/C7SE00038C>.

Zhang et al. 2009

Zhang, S.; Yuan, X.; Wang, H.; Merida, W.; Zhu, H.; Shen, J.; Wu, S. & Zhang, J. (2009), „A review of accelerated stress tests of MEA durability in PEM fuel cells“, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(1), S. 388–404.
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.10.012>.

Zhang et al. 2018

Zhang, Z. P.; Rong, M. Z. & Zhang, M. Q. (2018), „Polymer engineering based on reversible covalent chemistry: A promising innovative pathway towards new materials and new functionalities“, *Progress in Polymer Science*, 80, S. 39–93.
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2018.03.002>.

Zhang & Cicoira 2017

Zhang, S. & Cicoira, F. (2017), „Water-Enabled Healing of Conducting Polymer Films“, *Advanced Materials*, 29(40), S. 1703098.
<https://doi.org/10.1002/adma.201703098>.

Zhao 2018

Zhao, H. (2018), „Enzymatic Ring-Opening Polymerization (ROP) of Polylactones: Roles of Non-Aqueous Solvents“, *Journal of chemical technology and biotechnology*, 93(1), S. 9–19. <https://doi.org/10.1002/jctb.5444>.

Zhao et al. 2019

Zhao, X.; Noro, J.; Fu, J.; Silva, C. & Cavaco-Paulo, A. (2019), „Strategies for the synthesis of fluorinated polyesters“, *RSC advances*, 9(4), S. 1799–1806.
<https://doi.org/10.1039/c8ra10341k>.

Zhao & Li 2019

Zhao, J. & Li, X. (2019), „A review of polymer electrolyte membrane fuel cell durability for vehicular applications: Degradation modes and experimental techniques“, *Energy Conversion and Management*, 199, S. 112022.
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2019.112022>.

Zhao & Li 2023

Zhao, J. & Li, X. (2023), „Fuel cell durability under automotive driving cycles—fundamentals and experiments“ in *Fuel Cells for Transportation*, Elsevier, S. 419–462.

Zheng et al. 2021

Zheng, W.; Xu, L.; Hu, Z.; Ding, Y.; Li, J. & Ouyang, M. (2021), „Dynamic modeling of chemical membrane degradation in polymer electrolyte fuel cells: Effect of pin-hole formation“, *Journal of Power Sources*, 487. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2020.229367>.

Zhou et al. 2018

Zhou, B.; He, D.; Hu, J.; Ye, Y.; Peng, H.; Zhou, X.; Xie, X. & Xue, Z. (2018), „A flexible, self-healing and highly stretchable polymer electrolyte via quadruple hydrogen bonding for lithium-ion batteries“, *Journal of Materials Chemistry A*, 6(25), S. 11725–11733. <https://doi.org/10.1039/C8TA01907J>.

Zhu et al. 2020

Zhu, M.; Liu, J.; Gan, L. & Long, M. (2020), „Research progress in bio-based self-healing materials“, *European Polymer Journal*, 129, S. 109651.
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109651>.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1: Neuzulassungen von PKW mit Brennstoffzellenantrieb in der Europäischen Union von 2014 bis 2021 (Statista 2024).	2
Abbildung 1-2: Schematische Darstellung des Zusammenhangs der Leistung und der Lebensdauer einer konventionellen und selbstheilenden PEMFC.	5
Abbildung 2-1: Herausforderungen und Lösungsansätze der PEMFC Technologie im Bereich der Mobilität.	7
Abbildung 2-2: Funktionsweise einer PEMFC mit vorhandenem Pinhole, angelehnt an Lehmann (2014).	11
Abbildung 2-3: Schematischer Aufbau einer PEMFC (Schäfer & Eschner 2019).	12
Abbildung 2-4: Molekülstruktur eines Nafion™ Ionomers. Typische Werte: $x = 1$; $y = 2$. Bearbeitet nach Kusoglu & Weber 2017. Typische Werte: $m = 5$ - 13 ; $n \approx 1000$; angelehnt an Kurzweil & Schmid (2016).	15
Abbildung 2-5: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Pinholes in einer Nafion™ Membran (Lee et al. 2011).	17
Abbildung 2-6: Darstellung der Ursache-Wirkungs-Beziehungen zum Problem der Pinholebildung in Polymerelektrolytmembranen (PEM).	19
Abbildung 2-7: Kategorisierung von Selbstheilungsmechanismen in Polymeren unterschieden nach Bindungstyp, angelehnt an (Wang & Urban 2020).	24
Abbildung 2-8: Relative Aktivität der CALB und der N435 zwischen 40 und 160 °C, modifiziert nach Poojari & Clarson (2013).	31
Abbildung 2-9: Funktionsweise des <i>para</i> -Nitrophenol-Acetat-Assays zum Nachweis der Enzymaktivität (A_Bilger 2022).	33
Abbildung 2-10: Schematischer Aufbau eines fluorhaltigen Linkers, zur Immobilisierung von Enzymen an fluoridierte Oberflächen.	37
Abbildung 2-11: Funktionsweise des Carbodiimids als Kupplungsreagenz modifiziert nach Hermanson (2013) (A). Schematische Darstellung der Kupplung eines Enzyms an einen Linker mittels Carbodiimid (B).	38

Abbildung 2-12: Schematische Darstellung des Funktionsprinzips einer enzymatischen Polymerisation.	39
Abbildung 2-13: Beispielhafte Monomere, die für die enzymatische Polymerisation mit einer Lipase eingesetzt werden können (A_Adami 2023).	40
Abbildung 2-14: Schema der enzymatischen Ringöffnungspolymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on zu Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butylcarbonat.	43
Abbildung 2-15: Prinzip der ToF-SIMS, modifiziert nach simslab.rice.edu .	49
Abbildung 4-1: Vorgehensmodell zur Entwicklung eines Selbstheilungsmechanismus für PEM orientiert an der Concept Development & Experimentation (CD&E) Methode.	62
Abbildung 4-2: Anforderungen und Lösungsansatz.	63
Abbildung 4-3: Skizze der selbstheilenden PEM.	64
Abbildung 4-4: Aufbau der mit Enzymen modifizierten PEM zur Realisierung des biohybriden Systems. I. Immobilisierung der Lipasen II. Zuführung Substrat (Monomer) III. Biokatalytische Füllstoffproduktion durch Polymerisation IV. Schließen des Pinholes durch Haftung des Polymers (Gartner et al. 2023a).	65
Abbildung 4-5: Zusammenhang zwischen Enzym – Füllstoff aus Monomer – Membran.	66
Abbildung 4-6: Schematische Darstellung zur Immobilisierung von Enzymen an Nafion™ über fluorophile Wechselwirkungen.	70
Abbildung 5-1: Auszug aus dem CD&E Vorgehensmodell zur Entwicklung eines Selbstheilungsmechanismus für PEM mit Fokus auf Phase I.	75
Abbildung 5-2: <i>p</i> -NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL (A) und der CALB (B) auf Polypropylen bei verschiedenen Temperaturen (Gartner et al. 2023b).	77
Abbildung 5-3: Relative Aktivität der freien (A) und immobilisierten CRL (B) auf Polypropylen (Gartner et al. 2023b).	78

Abbildung 5-4: <i>p</i> -NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL und der CALB auf Polypropylen hergestellt mit verschiedenen Carbodiimiden (A) und hergestellt mit verschiedenen Prozessschritten (B) (Gartner et al. 2023b).	79
Abbildung 5-5: Verbleibende Aktivität der Immobilisate von CRL auf Polypropylen über die Anzahl an Aktivitätszyklen (A) und nach 28 Tagen Lagerung (B) (Gartner et al. 2023b).	81
Abbildung 5-6: Charakterisierung der immobilisierten CRL auf Polypropylen unter Einfluss relevanter Herstellungs- und Betriebsparameter der PEMFC (Gartner et al. 2023b).	85
Abbildung 5-7: Adhäsion des F-Rhodamins (A) an der Nafion™ Membran in einem Fluoreszenzmikroskop (B) (Gartner et al. 2023a).	89
Abbildung 5-8: <i>p</i> -NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL an Nafion™ mittels F-Rhodamin-Linker. Ads: adsorptiv gebundene CRL (A). Foto der immobilisierten CRL an Nafion™ mittels F-Rhodamin-Linker (B).	90
Abbildung 5-9: Strukturformeln der kurzkettigen Fluor-Tags: Perfluorpropansäure (A) und Perfluorpentansäure (B).	90
Abbildung 5-10: <i>p</i> -NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL an Nafion™ mit kurzkettigen Fluor-Tags: (A) Variation des Fluor-Tags: Perfluorpropan- vs. Perfluorpentansäure, (B) Variation der Lösungsmittel für Perfluorpentansäure (A_Adami 2023).	92
Abbildung 5-11: <i>p</i> -NPA-Substratumsatz der Immobilisate der CRL an Nafion™ mittels Fluor-Tag (100 mM Perfluorpropansäure in Reinstwasser) bei Variationen des Membrandurchmessers (A) und (B), und bei Verwendung einer Einspannvorrichtung (C) (A_Schwarzer 2023).	94
Abbildung 5-12: Peptidchip (A) und Screening Ergebnis zur Identifizierung von bindenden Peptiden an Nafion™-Ionomere (B-D) (Schmidt et al. 2023).	96
Abbildung 5-13: Screening Ergebnis: Struktur des am stärksten haftenden Peptids WIWHCW (A), Schematische Darstellung der selektiven Bindungsgeometrie als Greifhand mit den Seitenketten Trp und His als Finger (B) (Schmidt et al. 2023).	97

Abbildung 5-14: Fluoreszenzintensität der Nafion™ Membran mit dem Peptidlinker WIWHCW und Kontrollprobe HA-Epitop. Die Intensitäten der Proben (Ip) wurde auf die Autofluoreszenz der Nafion™ Membran (Ib) normiert (Schmidt et al. 2023).	98
Abbildung 5-15: Ausschnitt der Ergebnisse zur Lösungsmittelinteraktion mit Nafion™ Membranen über eine Zeitspanne von 0 bis 180 Sekunden (A_Adami 2023).	102
Abbildung 5-16: Synthese des fluorierten cyclischen Carbonats 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on (A_Moench 2023).	103
Abbildung 5-17: ¹ H NMR-Spektrum des Produktes 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on (oben) und des Eduktes 2,2,3,3-Tetrafluorobutandiol (unten) (A_Moench 2023).	104
Abbildung 5-18: Enzymatische Ringöffnungspolymerisation (ROP) des Monomers 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on zum Polymer Poly-2,2,3,3-tetrafluoro- butyl-carbonat mittels der Lipase N435 in Toluol (A_Moench 2023).	105
Abbildung 5-19: SEC-Chromatogramme. Darstellung der Molmassenverteilung des fluorierten Polymers Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch N435 in Toluol im ersten Ansatz.	106
Abbildung 5-20: Chemische Polymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on zu Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat (A_Moench 2023).	107
Abbildung 5-21: SEC-Chromatogramme. Darstellung der Molmassenverteilung des Polymers Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch eine chemische Polymerisation mit dem Katalysator TBD in DCM.	108
Abbildung 5-22: DSC Kurven der fluorierten Polymerisate 1-3 Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch N435 in Toluol (links) und chemisch synthetisiert durch TBD (rechts). Darstellung der Abkühlkurve und der Aufheizkurve mit den charakteristischen Kennzahlen T_g , T_k , T_m .	109
Abbildung 5-23: Thermogravimetrische Analyse des fluorierten Polymerisats 1-3 Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch N435 in HFIP.	111

Abbildung 5-24: SEC-Chromatogramme. Darstellung der Molmassenverteilung des Monomers unbehandelt und behandelt, sowie der fluorierten Polymerisate 1-3 Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch N435 in Toluol im zweiten Ansatz.	112
Abbildung 5-25: Spektren der Oberflächenmessungen der Proben mittels ToF-SIMS für die einzelnen Schritte der Enzymimmobilisierung und der Polymerisation für vier charakteristische Ionen. Bild Enzym (Grochulski & Cygler 1994)	116
Abbildung 5-26: Kameraaufnahmen der Mikro- (800 x 800 µm) und Makrostruktur (15 x 10 mm) der Membran, der Membran mit F-Tag und immobilisiertem Enzym, sowie der Polymerbildung durch das Enzymimmobilisat auf der Membran.	117
Abbildung 5-27: Tiefenprofil der Proben mittels ToF-SIMS für die einzelnen Schritte der Enzymimmobilisierung und der Polymerisation für vier charakteristische Ionen. Jeweils links: Overlay aller Ionen, jeweils rechts: C ₂ HF ₄ - Ion.	118
Abbildung 5-28: Untersuchung der künstlich eingebrachten Pinholes in Nafion™ Membranen mittels Digitalmikroskop (A) und Oberflächenprofilometer (B) (Gartner et al. 2023a).	122
Abbildung 5-29: Aufbau zur Untersuchung der H ₂ - Durchlässigkeit der Nafion™ Membranen mit Pinholes definierter Größe.	123
Abbildung 5-30: Stoffmenge des durch die Membran durchgelassenen Wasserstoffs für verschiedene Pinholegrößen (A_Schwarzer 2023).	124
Abbildung 6-1: Integration des enzymatischen Selbstheilungsmechanismus in den Lebenszyklus der PEMFC.	133
Abbildung 0-1: Immobilisierungsmethode von Lipasen an funktionalisierte Polypropylen Membranen, angelehnt an Hermanson (2013).	LIII
Abbildung 0-2: Abfolge der Herstellung von Pinholes durch Verwendung einer Mikronadel (A_Schwarzer 2023).	LXII
Abbildung 0-3: Ablauf der Begasung zur Feststellung des Selbstheilungseffekts (A_Schwarzer 2023).	LXIII

Abbildung 0-4: SEC-Chromatogramme. Darstellung der Molmassenverteilung der fluorierten Polymerisate Poly-2,2,3,3-tetrafluorobutyl-carbonat durch N435 in HFIP im ersten Ansatz. LXVIII

Abbildung 0-5: DSC Kurven der fluorierten Polymerisate 1-3 Poly-2,2,3,3-tetrafluorobutyl-carbonat durch N435 in HFIP. LXIX

Abbildung 0-6: DSC Kurve der Kontrolle: N435 in THF. LXIX

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1: Übersicht aktueller Publikationen zu Degradationsmechanismen, Einflussfaktoren und Lebensdauer der PEM.	22
Tabelle 2-2: Kategorisierung von Selbstheilungsmechanismen in Polymeren unterschieden nach extrinsisch und intrinsisch. Vor- und Nachteile, in rot markiert besonders gravierende Nachteile für die Anwendung in PEMFC.	25
Tabelle 2-3: Klassifizierung von Enzymen für die in vitro Produktion von Polymeren, angelehnt an Kobayashi et al. (2001).	29
Tabelle 2-4: Übersicht relevanter Arbeiten zur enzymatischen Polymerisation von nicht-fluorierten und fluorierten Monomeren mittels Lipasen.	42
Tabelle 3-1: Übersicht der Lösungsoptionen und deren Bewertung zur Behebung von Pinholes in PEM.	60
Tabelle 4-1: Gegenüberstellung des gewählten Konzepts mit alternativen Optionen zum Aufbau des Selbstheilungsmechanismus.	72
Tabelle 5-1: Zusammenhang Fluor-Tag Länge, Substratumsatz und Haftung verschiedener Immobilisate der CRL an Nafion™.	91
Tabelle 5-2: Molmassen und Polydispersitätsindex (PDI) der Polymerisate und Kontrollen.	113
Tabelle 6-1: Bewertung der Erfüllung der Anforderungen an den Ansatz nach aktuellem Stand der Arbeiten.	127
Tabelle 0-1: Verwendete Chemikalien, Gase und Enzyme.	XLVII
Tabelle 0-2: Verwendete Geräte.	XLVIII
Tabelle 0-3: Verwendete Verbrauchsmaterialien.	L
Tabelle 0-4: Verwendete Puffer mit entsprechender Zusammensetzung.	LI
Tabelle 0-5: Immobilisierung für verschiedene Durchmesser der Nafion™-Membran.	LVII

Anhang

A. Materialien

A.1 Verwendete Chemikalien, Gase und Enzyme

Tabelle 0-1: Verwendete Chemikalien, Gase und Enzyme.

Chemikalie	Summenformel	CAS-Nummer	Hersteller	Sitz des Herstellers
1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid (EDC)	C ₈ H ₁₇ N ₂	25952-52-8	Carbosynth Holdings Limited	London, Vereinigtes Königreich
1-Propanol	C ₃ H ₈ O	71-23-8	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
2,2,3,3-Tetrafluorobutan-1,4-diol	C ₄ H ₆ F ₄ O ₂	425-61-6	Alfa Aesar	Ward Hill, Massachusetts, USA
Acetonitril	C ₂ H ₃ N	75-05-8	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Chloroform-d	CHCl ₃	865-49-6	Eurisotop GmbH	Saarbrücken, Deutschland
Dichlormethan (DCM)	CH ₂ Cl ₂	75-09-2	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)	C ₁₃ H ₂₂ N ₂	538-75-0	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Diisopropylcarbodiimid (DIC)	C ₇ H ₁₄ N ₂	693-13-0	Thermo Fisher Scientific	Waltham, Vereinigte Staaten
Dimethylformamid (DMF)	C ₃ H ₇ NO	68-12-2	Merck Millipore	Molsheim, Frankreich
Dimethylsulfoxid (DMSO)	C ₂ H ₆ OS	67-68-5	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Dinatriumhydrogenphosphat	Na ₂ HPO ₄	7558-79-4	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Ethanol	C ₂ H ₆ O	64-17-5	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Ethylacetat (EtOAc)	C ₄ H ₈ O ₂	141-78-6	Merck Millipore	Molsheim, Frankreich
F-Rhodamin-Linker	C ₄₈ H ₃₇ F ₂₆ N ₂ O ₃ *Cl	1441383-55-6	-	-
Kaliumdichromat	K ₂ Cr ₂ O ₇	7778-50-9	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Lipase aus <i>Candida rugosa</i> (CRL), Aktivität 5,2 U/mg Protein	-	9001-62-1	Sigma-Aldrich	St. Louis, Missouri, Vereinigte Staaten
Lipase aus <i>Candida rugosa</i> (CRL), Aktivität 40.773 U/mg Protein	-	9001-62-1	Sigma-Aldrich	St. Louis, Missouri, Vereinigte Staaten
Lipase B aus <i>Candida antarctica</i> (CALB)	-	9001-62-1	Sigma-Aldrich	St. Louis, Missouri, Vereinigte Staaten
rekomb. <i>Asp. oryzae</i>	-	-	-	-
Methanol	CH ₃ OH	67-56-1	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Novozym 435 (N435)	-	9001-62-1	Novozymes	Bagsvaerd, Dänemark

Natriumchlorid	NaCl	7647-14-5	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat	NaH ₂ PO ₄ · 2 H ₂ O	13472-35-0	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
<i>para</i> -Nitrophenol-Acetat	C ₈ H ₇ NO ₄	830-03-5	S. Janssen Chemie-handels-gesellschaft mbH	Hamburg, Deutschland
Perfluorhexan	C ₆ F ₁₄	355-42-0		
Perfluorpentansäure	C ₅ HF ₉ O ₂	2706-90-3	Sigma-Aldrich	St. Louis, Missouri, Vereinigte Staaten
Perfluorpropansäure	C ₃ HF ₅ O ₂	422-64-0	abcr GmbH	Karlsruhe, Deutschland
Sauerstoff	O ₂	7782-44-7	Air Liquide	Paris, Frankreich
Schwefelsäure (96%)	H ₂ SO ₄	7664-93-9	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Stickstoff	N ₂	7727-37-9	Air Liquide	Paris, Frankreich
Tetrahydrofuran (THF)	C ₄ H ₈ O	109-99-9	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Toluol	C ₇ H ₈	108-88-3	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Triethylamin	C ₆ H ₁₅ N	121-44-8	Merck Millipore	Molsheim, Frankreich
Tri-Natriumcitrat-Dihydrat	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ · 2 H ₂ O	6132-04-3	Merck Millipore	Molsheim, Frankreich
Triphosgen	C ₃ Cl ₆ O ₃	32315-10-9	Merck Millipore	Molsheim, Frankreich
Wasserstoff	H ₂	1333-74-0	Air Liquide	Paris, Frankreich
Zitronensäure	C ₆ H ₈ O ₇	77-92-9	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland

A.2 Verwendete Geräte

Tabelle 0-2: Verwendete Geräte.

Geräte	Typ / Modell	Hersteller	Sitz des Herstellers
Feinwaage	BP 61 S	Sartorius	Göttingen, Deutschland
Digitalmikroskop	VHX-7000 mit Objektiv VH-Z100R	Keyence	Osaka, Japan
Differenzkalorimeter (DSC)	DSC 2500	TA Instruments	New Castle, USA
Fluoreszenzmikroskop	Axio-Imager M2	Zeiss	Deutschland
Gaschromatograph	Micro GC Fusion – Gasanalysator	Inficon	Bad Ragaz, Schweiz
Größenausschlusschromatographiesystem (SEC)	1260 Infinity II LC System	Agilent Technologies	Waldbronn, Deutschland
Heiz- und Magnetrührer	Hei-Tec	Heidolph	Schwabach, Deutschland

Heizinkubator	HERA hybrid 6	Heraeus Holding GmbH	Hanau, Deutschland
Kippschüttler	Heidolph	Polymax 1040	Schwabach, Deutschland
Linse des verwendeten Mikroskops	VH-Z100R	Keyence Deutschland GmbH	Neu-Isenburg, Deutschland
Lochstanze 6 mm, Kreisstanze 25 mm	-	-	-
Manometer	GMH 3111-Ex	GHM Group – Greisinger	Regenstauf, Deutschland
Massendurchflussregler (Zur Begasung der Septumflaschen)	red-y smart controller GSC	Vögtlin Instruments GmbH	Muttenz, Schweiz
Mikronadeln	Micro-Needle 13671 & Micro-Needle 13671 A	Ted Pella, Inc.	Redding, USA
Mikroskop	VHX-7000	Keyence Deutschland GmbH	Neu-Isenburg, Deutschland
Mikrotiterplattenphotometer	Infinite M200 pro	Tecan Group	Männerdorf, Schweiz
Milli-Q®-Anlage	Purelab	ELGA LabWater	High Wycombe, England
NMR	AM 400	Bruker	Billerica, Massachusetts, USA
Oberflächenprofilometer	Dektakt XT	Bruker Biospin GmbH	Ettlingen, Deutschland
pH-Meter	InoLab pH1 Level 1	Xylem Analytics	Weileim, Deutschland
Plastikfilterhalter	FP 025/1	Whatman GmbH (heute Cytiva Europe GmbH)	Dassel, Deutschland
Reagenzglasschüttler	44013	neoLab Migge GmbH	Heidelberg, Deutschland
Rotationsverdampfer	Hei-VAP Core	Heidolph	Schwabach, Deutschland
Rotator	7-0045	neoLab Migge GmbH	Heidelberg, Deutschland
Teli CCD Kamera	CS8620Ci TK5594A7	Toshiba	Tokio, Japan
TGA	DC12V CCD Camera TGA 5500	TA Instruments	New Castle, USA
Thermoschüttler	Comfort	Eppendorf	Hamburg, Deutschland
ToF-SIMS	TOF.SIMS5-Instrument	ION-TOF GmbH	Münster, Deutschland
Trocknerhaube	CombNozzle Dryer 1000	CN Drying Technology GmbH	Berlin, Deutschland
Tropfengenerator	TR30R	Krüss	Hamburg, Deutschland
Vortexmischer	44013	neoLab Migge gmbH	Heidelberg, Deutschland
Zentrifuge für Eppendorf Kunststoffröhrchen (1,5 – 2 mL)	Heraus Pico 17 Centrifuge	Thermo Scientific	Waltham, Vereinigte Staaten

A.3 Verwendete Verbrauchsmaterialien

Tabelle 0-3: Verwendete Verbrauchsmaterialien.

Verbrauchsmaterial	Typ / Modell	Hersteller	Sitz des Herstellers
Probenfläschchen Glas Glaswolle	ROTILABO® mit Feingewinde ND18, Klarglas, 10 mL nach DIN 1259-1	Carl Roth Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland Karlsruhe, Deutschland
Kunststoffröhrchen (1,5 mL)	1,5 mL, PP	Sarstedt AG & Co. KG	Nümbrecht, Deutschland
Kunststoffröhrchen (50 mL)	50 mL, PP	Sarstedt AG & Co. KG	Nümbrecht, Deutschland
Mikrotiterplatten	Mikroplatte, 96 well, F-Boden, transparent	Greiner Bio-One International GmbH	Kremsmünster, Österreich
Nafion™ Membran	Nafion™ NR212	DuPont de Nemours (heute Chemours)	Wilmington, Vereinigte Staaten
Pipettenspitzen 10 µL	Pipettenspitzen Kristall 0,5-10 µL	LVL technologies GmbH & Co. KG	Crailsheim, Deutschland
Pipettenspitzen 200 µL	Pipettenspitzen Multi® Universal	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Pipettenspitzen 1000 µL	Pipettenspitzen Brand, Standard	Carl Roth	Karlsruhe, Deutschland
Polypropylenmembran (PP)	4000-00-03-V	Leitz	Stuttgart, Deutschland
Slide-A-Lyzer™ MINI Dialyseeinheit	10K MWCO, 10-100 µL Samples	Thermo Scientific	Braunschweig, Deutschland
Spritzenvorsatzfilter	0,22 µm PTFW	Restek	Bad Homburg, Deutschland

A.4 Pufferlösungen

Für die Herstellung der Puffer wurden die dafür benötigten Chemikalien auf einem Magnetrührer in der Hälfte des vorzunehmenden Volumens, gelöst. Der pH-Wert wurde durch eine 1 M Natriumhydroxydlösung eingestellt und die Puffer in einem Messzylinder auf das Endvolumen aufgefüllt. Die Puffer wurden bei 4 °C, lichtgeschützt gelagert und auf 23 °C vor deren Nutzung aufgewärmt.

Tabelle 0-4: Verwendete Puffer mit entsprechender Zusammensetzung.

Puffer	Chemikalien
Phosphatpuffer, 50 mM, pH 7,2	4,25 g Natriumchlorid 1,1 g Dinatriumhydrogenphosphat 2,6 g Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat 500 mL Reinstwasser
Citratpuffer, pH 3	138 mg Tri-Natriumcitrat-Dihydrat 870 mg Zitronensäure 100 mL Reinstwasser

A.5 Enzymlösungen

Die verwendeten Ausgangslösungen der Lipase aus *Candida rugosa* (CRL, Aktivität 5,2 U/mg Protein) und der Lipase B aus *Candida antarctica* (CALB) hatten eine Konzentration von 2 g/L. Die Konzentrationen basierten auf der Masse der gekauften Enzymformulierung, nicht auf der reinen Enzymmasse. Dafür wurden 60 mg der Enzymformulierung in einem 50 mL Kunststoffröhrchen eingewogen und anschließend 30 mL des Phosphatpuffers hinzugefügt. Die Enzymlösung wurde für mindestens 30 min auf einem Rotator (Programm C1, 15 U/min) geschüttelt. Für jeden Versuchstag wurde die Enzymlösung frisch angesetzt.

Für die enzymatische Polymerisation mit der immobilisierten CRL an Nafion™ Membranen wurde für die Immobilisierung eine Enzymlösung der CRL mit der Aktivität 40.773 U/mg Protein und einer Konzentration von 20 g/L angesetzt, siehe Vorgehen B.10.

Für die Versuche mit N435 wurde N435 direkt zur Substratlösung gegeben, siehe Vorgehen B.13.

A.6 *para*-Nitrophenol-Acetat-Lösung

Das verwendete Substrat *para*-Nitrophenol-Acetat für den Assay wurde in einem 50 mL Kunststoffröhrchen abgewogen. Die verwendete Konzentration der Lösung betrug 5 mM (entspricht 0,90575 g/L), wofür das notwendige Volumen an Ethanol in das 50 mL Kunststoffröhrchen pipettiert wurde. Für 20 mg eingewogenes Substrat wurde ein Volumen von 22,081 mL Ethanol verwendet. Anschließend wurde die Lösung auf einem Rotator (Programm C1, 20 U/min) für mindestens 30 min geschüttelt. Die *para*-Nitrophenol-Acetat-Lösung wurde für jeden Versuchstag frisch angesetzt.

A.7 F-Rhodamin-Linker Lösung

Für die Immobilisierung der Enzyme an Nafion™ diente ein Fluor markierter Rhodamin-farbstoff als Linker (F-Rhodamin-Linker). Eine 10 mM Lösung der F-Rhodamin-Linker in Methanol wurde hergestellt. Dazu wurden $m = 2,3$ mg des F-Rhodamin-Linker Pulvers mit der Molmasse $M = 1805$ g/mol abgewogen und in $V = 127,4$ μ L Methanol gelöst. Die Lösung wurde zu jedem neuen Versuchstag frisch angesetzt.

A.8 Kurzkettige Fluor-Tag Lösungen

Als Alternative zum Fluor-markierten Rhodamin-Linker wurden Perfluorpropansäure bzw. Perfluorpentansäure als Fluor-Tags genutzt. Eine bestimmte Konzentration des Fluortags (0,1-1 mol/L) wurde mit einem spezifischen Lösungsmittel (Reinstwasser, DMSO und Acetonitril) eingestellt, in der dann die Nafion™-Membran inkubiert wurde. Die Lösungen wurden zu jedem neuen Versuchstag frisch angesetzt.

B. Experimentelle Methoden

B.1 Herstellung verschiedener verwendeter Membrandurchmesser

Die in dieser Arbeit verwendeten Nafion™ und Polypropylen (PP)-Membranen hatten einen Durchmesser von 6 mm bzw. 25 mm, welche bereits vor der Durchführung der Immobilisierung hergestellt wurden. Membranen mit einem 6 mm Durchmesser wurden mithilfe einer Lochstanze ausgestanzt. Für 25 mm Membranen wurde eine größere Kreisstanze verwendet.

B.2 Immobilisierung von Lipasen an Polypropylen

Die Immobilisierung von CRL und CALB an einer funktionalisierten Polypropylen (PP) Membran wurde nach dem Schema von (Hermanson 2013) durchgeführt, siehe Abbildung 0-1. PP-Membranen der Größe 13 x 80 mm wurden ausgeschnitten. Die Methylgruppen auf den PP-Membranen wurden mit Kaliumdichromat zu Carboxylgruppen oxidiert. Dazu wurden die Membranen 10 Minuten lang bei 23 °C in 30 mL Aceton und anschließend 10 Minuten lang bei 30 °C und 500 U/min in 15 mL Oxidationslösung (3 g Kaliumdichromat, 11,4 mL Reinstwasser, 9,58 mL 96%-ige Schwefelsäure) getaucht. Nach 3 Waschvorgängen mit Reinstwasser wurden die Enzyme kovalent auf funktionalisierten PP-Membranen unter Verwendung von Carbodiimiden als Carboxylgruppenaktivatoren immobilisiert. Jede Membran erhielt 15 mL Phosphatpuffer (50 mM, pH 7,2) mit 1 g/L Enzym und 3,221 mmol/L Diisopropylcarbodiimid (DIC). Die Inkubation dauerte 18 Stunden bei 4 °C, 5 U/min, gefolgt von 30-minütigem Waschen bei 23 °C, 500 U/min. Die Membranen mit einem Durchmesser von 6 mm wurden dann mit einer Lochzange ausgestanzt. Der Erfolg der Immobilisierung wurde durch dreifache Messungen des *p*-NPA Assay bestimmt.

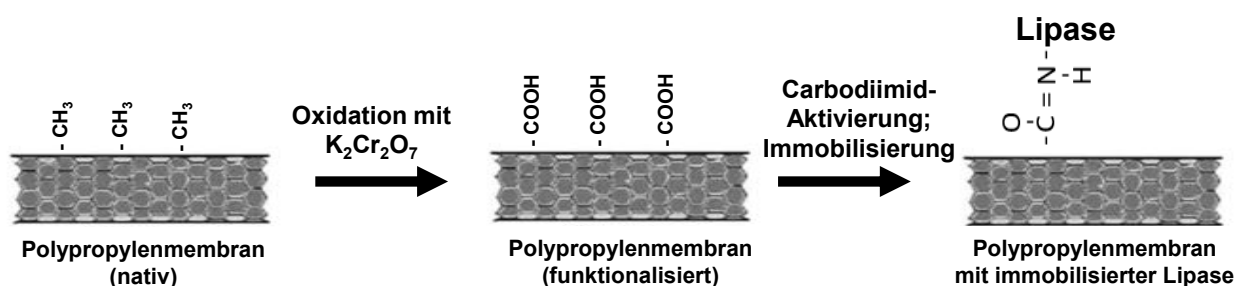


Abbildung 0-1: Immobilisierungsmethode von Lipasen an funktionalisierte Polypropylen Membranen, angelehnt an Hermanson (2013).

B.3 Optimierung und Charakterisierung der Enzymimmobilisierung an PP

Die Experimente zur Charakterisierung beinhalteten die Messung des Aktivitätsverlaufes der Lipasen über die Temperatur, die Optimierung des Immobilisierungsprozesses durch Variation des Carbodiimids und der Reihenfolge, Versuche zur Wiederverwendbarkeit und zur Langzeitstabilität.

Um das Temperaturoptimum der immobilisierten Enzyme zu ermitteln, wurden die Substratsätze verschiedener Immobilisate bei unterschiedlichen Assay-Temperaturen, mit Hilfe eines *p*-NPA-Assays, bestimmt. Dafür wurden Immobilisate der CRL und der CALB verwendet. Diese wurden mit einer Enzymkonzentration von 2 g/L beziehungsweise 1 g/L und mit dem Carbodiimid DIC hergestellt.

Für die Optimierungsversuche wurden anstelle von DIC 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid (EDC) und Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) getestet. Außerdem wurde ein Immobilisat hergestellt, bei dem die Lipase adsorptiv auf der Polypropylenmembran ohne Zusatz von Carbodiimid immobilisiert wurde.

Außerdem wurden die CRL-Immobilisate auf 3 verschiedene Arten hergestellt. Methode A: PP-Membranen wurden in einem Kunststoffröhrchen 60 min lang bei 30 °C und 500 U/min mit 15 mL Phosphatpuffer, der 3,221 mmol/L DIC enthielt, inkubiert, dann transferiert und 5 min lang in einem frischen Kunststoffröhrchen gewaschen, woraufhin 15 mL einer Phosphatpufferlösung, die 2 g/L Enzym enthielt, hinzugefügt wurden. Methode B: Analog zu Methode A, nur ohne Waschen. Methode C: Gleichzeitige Zugabe von DIC und Enzym. Alle drei Kunststoffröhrchen wurden dann 18 h lang bei 4 °C und 5 U/min inkubiert.

Für die Experimente zur Wiederverwendbarkeit wurden die Immobilisate vorbereitet und ein erster Aktivitätstest durchgeführt. Dann wurden die Membranen in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß mit 500 µL Phosphatpuffer überführt und 5 s lang auf dem Vortex bei 23 °C gewaschen. Anschließend wurde die Aktivität der gleichen Membranen mit einem zweiten *p*-NPA-Assay bestimmt. Diese Schritte wurden acht Mal wiederholt.

Die Bedingungen für die Lagerstabilität waren 23 °C und Schutz vor Licht. 15 freie CRL-Proben und 15 immobilisierte Proben wurden für verschiedene Zeiträume von 0, 14 und 28 Tagen gelagert und die Enzymaktivität wurde mit einem Standard *p*-NPA-Assay bestimmt.

B.4 Einfluss der Herstellungs- und Betriebsbedingungen auf Immobilisate

Der Einfluss der Herstellungs- und Betriebsparameter der PEMFC auf die Enzymaktivität der an PP immobilisierten Lipasen und der freien Lipasen (CALB und CRL) wurde untersucht. Dafür wurden die in der PEMFC herrschende Temperatur, ein saurer pH-Wert, Gasatmosphären mit reinem Wasserstoff bzw. Sauerstoff (also stark reduzierende bzw. stark oxidierende Bedingungen), sowie der Kontakt mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln simuliert. Die Aktivität der Immobilisate wurde mit der Aktivität des freien Enzyms (2 g/L CRL in Phosphatpuffer, pH 7,2) verglichen.

Zur Bestimmung der Temperaturstabilität wurden freie Lipaselösungen und immobilisierte Proben 3 Tage lang bei einem pH-Wert von 7,2 und 60 °C oder 4 °C gelagert und die Enzymaktivität mit einem *p*-NPA-Assay bei Raumtemperatur gemessen.

Um die Stabilität gegenüber sauren pH-Werten zu beurteilen, wurden die freie CRL-Lösung und die Immobilisate 3 Tage lang bei 4 °C in 50 mM Citratpuffer bei pH 3 (bestehend aus 138 mg Tri-Natriumcitrat-Dihydrat, 870 mg Zitronensäure, 100 mL Reinstwasser) gelagert. Die Immobilisierungsaktivitäten wurden vor und nach der Messung mit einem *p*-NPA-Assay bestimmt. Freie CRL-Lösungen wurden durch Einbringen der Lösungen in Slide-A-Lyzer™ MINI-Dialyseeinheiten wieder gepuffert, gefolgt von der Messung der Enzymaktivität. Der Verlust an Enzymaktivität durch die Dialyse wurde durch den Vergleich des Substratumsatzes von gelagerten, nicht wieder gepufferten CRL (56,8 %) mit dialysierten (48,3 %) Gegenstücken quantifiziert, was einen Aktivitätsverlust von 14,9 % durch die Dialysebehandlung ergab.

Die Enzymstabilität von freien CRL-Lösungen auf alkoholischen Komponenten wurde getestet, indem 2 g/L Enzymlösung in Phosphatpuffer mit 5 Gew.-% Ethanol bzw. 60 Gew.-% 1-Propanol bzw. einer Kombination aus beiden hergestellt wurden. 500 µL jeder Enzymlösung wurden in eine Slide-A-Lyzer™ MINI-Dialyseeinheit gegeben, um sie neu zu puffern. Die immobilisierten Proben wurden zusammen mit 500 µL der jeweiligen Alkohollösungen in einem Kunststoffröhrchen bei 23 °C für 5 min bei 1000 U/min inkubiert, mit 500 µL Reinstwasser für 5 s auf dem Vortex gespült und ein Assay durchgeführt.

Um die Stabilität des Enzyms unter verschiedenen Gasatmosphären zu beurteilen, wurden 50 mL freie Lipaselösungen bzw. 3 immobilisierte Lipasen an PP auf eine Kanüle

aufgespießt und in 250 mL große Septumflaschen gegeben. Leerproben mit Phosphatpuffer pH 7,2 waren ebenfalls enthalten. Zyklen mit Unterdruck (0,1 bar) und Überdruck (0,7 / 0,9 bar) unter Verwendung von Stickstoff wurden 20 Mal wiederholt, um gelöste Gase durch inerten Stickstoff zu ersetzen. Sauerstoff bzw. Wasserstoff wurde in die vakuumierten Septumflaschen gegeben und durch Einführen einer Kanüle auf Umgebungsdruck gebracht. Die Inkubation erfolgte bei 13 °C und 250 U/min. Die Enzymaktivität wurde nach 3 und 5 Tagen mit dem *p*-NPA-Assay bestimmt. Pufferlösungen, die zusammen mit den Proben inkubiert wurden, dienten als Blindproben, um mögliche Einflüsse von Gasatmosphären auf die Autohydrolyse von *p*-NPA zu berücksichtigen.

B.5 Funktionalisierung der Nafion™ Membran mittels F-Rhodamin-Linker

Eine 1 mM Lösung von F-Rhodamin-Linkern in Methanol wurde hergestellt. Nafion™ Membranstücke einer bestimmten Größe wurden zugeschnitten, von der Trägerfolie gelöst und mit einer Pinzette für 5 s bei 23 °C in die Lösung gegeben, anschließend für 10 s in einer 50 Gew.-% Methanol-Lösung gewaschen und an der Luft getrocknet.

B.6 Bestimmung der Affinität der F-Rhodamin-Linker zur Nafion™ Membran

Die Affinität der F-Rhodamin-Linkers zur Membran gegenüber der reinen Lösungsmittel DCM, Acetonitril, Perfluorhexan und Dimethylformamid (DMF) wurde über 24 h analysiert. Dazu wurden Membranstücke nach B.5 behandelt und für 24 h in die Lösungsmittel getaucht und anschließend per Fluoreszenzmikroskop die Farbintensität gemessen. Der Unterschied in der Farbintensität im Vergleich zur Probe ohne Lösungsmittelbehandlung wurde optisch erfasst.

B.7 Funktionalisierung der Nafion™ Membran mittels kurzkettiger Fluor-Tags

Nafion™-Membranen mit definiertem Durchmesser wurden für 5 min bei 1000 U/min im Thermoschüttler bei 23 °C in einer kurzkettigen Fluor-Tag Lösung aus A.7 inkubiert. Anschließend wurde die Membran fünf Mal in dem für den Fluor-Tag verwendeten Lösungsmittel gewaschen, um überschüssige und nicht gebundene Fluor-Tag Moleküle zu entfernen.

B.8 Enzymanbindung per Carbodiimid

Um die Lipase von *Candida rugosa* (CRL) an eine Nafion™ Membran zu binden, wurde die Membran zunächst durch fluorophile Wechselwirkungen nach B.5 oder B.7 funktionalisiert, bevor das Enzym per Carbodiimidaktivierung an den Linker bzw. Fluor-Tag angebunden wurde.

Im Falle der Funktionalisierung mit F-Rhodamin-Linkern wurden Nafion™ Membranen mit einem Durchmesser von 6 mm verwendet und nach B.6 hergestellt. Die funktionalisierte Membran wurde in ein Glasvial mit 500 µL Lipaselösung überführt (2 g/L CRL in Phosphatpuffer). 0,2 Vol-% (entspricht einer Konzentration von 3,221 mmol/L) N,N'-Diisopropylcarbodiimid (DIC) (Kamal et al. 2007) wurden hinzugefügt, um die CRL kovalent zu binden. Die Glasvials wurden für 18 h bei 4 °C im Thermoschüttler bei 1000 U/min geschüttelt. Anschließend wurden die Immobilisate in ein neues Glasvial mit 1 mL Phosphatpuffer überführt und 30 Minuten bei 1000 U/min im Thermoschüttler bei 23 °C gewaschen, um ungebundene und überschüssige Lipase von der Nafion™ Membran zu entfernen. Anschließend wurden die Immobilisate erneut in 1 mL Phosphatpuffer überführt und bei 4 °C gelagert oder die Enzymaktivität im *p*-NPA-Assay bestimmt. Zur Untersuchung welcher Anteil des Enzyms rein adsorptiv mit der Membran wechselwirkt, wurde eine Kontrollprobe ohne Carbodiimidzugabe hergestellt und ebenfalls per *p*-NPA Assay analysiert.

Im Falle der Funktionalisierung mit kurzkettigen Fluor-Tags nach B.7 wurden Membranen mit einem Durchmesser von 6 mm und 25 mm verwendet. Die angepassten Mengenangaben sind in Tabelle 0-5 gelistet.

Tabelle 0-5: Immobilisierung für verschiedene Durchmesser der Nafion™ Membran.

Chemikalie	6 mm Nafion™ Membran	25 mm Nafion™ Membran
Kurzkettige Fluor-Tag Lösung	1 mL	15 mL
Waschlösung Fluor-Tag	1 mL	10 mL
Lipase-Lösung	1 mL	15 mL
DIC	1 µL bzw. 6,458 mmol/L*	7,48 µL bzw. 3,221 mmol/L
Waschlösung Lipase (Phosphatpuffer)	1 mL	15 mL

*Die höhere Konzentration ergibt sich aus dem geringsten Volumen, welches pipettiert werden konnte und 1 µL beträgt. Es wurde bereits gezeigt, dass höhere DIC-Konzentrationen keinen negativen Einfluss auf die Immobilisierung haben (A_Bilger 2022)

B.9 Optimierung und Charakterisierung der Enzymimmobilisate an Nafion™ mittels kurzkettiger Fluor-Tags

Bei kurzkettigen Fluor-Tag Lösungen wurden in den Lösungsmitteln Reinstwasser, Acetonitril und DMSO an Nafion™ Membranen mit einem Durchmesser von 6 mm getestet.

Runde Nafion™ Membranen mit einem Durchmesser von 25 mm wurden auf ähnliche Weise analysiert. Die angepassten Volumina und Gefäße sind in Tabelle 0-5 angegeben. Die Membranen wurden mit und ohne Ringmagneten eingespannt und in einem 50 mL Kunststoffröhrchen platziert.

Zur Überprüfung der Wiederverwendbarkeit der Immobilisate wurde eine Assaydauer von 60 min gewählt. Die CRL-Immobilisate an Nafion™ wurden in ein neues Kunststoffröhrchen überführt und in 500 μ L Phosphatpuffer auf einem Schüttler bei maximaler Geschwindigkeit für 5 s gemischt. Die Immobilisate wurden in ein neues Kunststoffröhrchen überführt und erneut auf einem Thermoschüttler bei 23 °C, 1000 U/min für 60 min inkubiert. Die Enzymaktivität wurde im *p*-NPA-Assay gemessen. Die Aktivität des Überstands wurde ebenfalls nach dem Waschschrift, d.h. der Inkubation in 500 μ L Phosphatpuffer bei 23 °C, 1000 U/min für 60 min auf einem Thermoschüttler, bestimmt. 495 μ L Phosphatpuffer wurden aus dem Kunststoffröhrchen zurückgewonnen und für den *p*-NPA-Assay verwendet. Die *p*-NPA-Assayzeit betrug 60 min.

B.10 Immobilisierung der CRL an Nafion™ Membranen für Polymerisationsversuche

Fünf Immobilisate der aktiven Form der CRL (Aktivität 40.773 U/mg Protein) an Nafion™ Membranen (D= 6 mm) wurden hergestellt. Die Funktionalisierung der Membran mit F-Rhodamin-Linkern erfolgte nach Vorgehen B.5. Die Enzymanbindung erfolgte basierend auf Vorgehen B.8. Im Unterschied zu B.9 wurde eine CRL-Lösung der Konzentration von 20 g/L hergestellt und die Lösung auf vier Glasvials mit je 1 mL aufgeteilt. Je eine funktionalisierte Membran wurde zur Lösung gegeben und 0,2 Vol-% DIC (1 μ L) hinzugegeben. Die Inkubation erfolgte bei 23 °C für 18 h auf einem Schüttler. Eine weitere funktionalisierte Membran wurde für die Analytik zurückgehalten. Die fertigen Immobilisate wurden in je 1 mL PBS Puffer überführt und für 30 min bei 100 U/min gewaschen und anschließend in PBS gelagert. Eines der vier Immobilisate wurde ebenfalls

für die Analytik zurückgehalten. Mit den weiteren drei Immobilisaten wurden eine enzymatische Polymerisation durchgeführt.

B.11 Lösungsmittel-Interaktion mit Nafion™ Membran

Um den Einfluss der eingesetzten Lösungsmittel auf die Membran darzustellen, wurden Aufnahmen der Lösungsmittelabsorption gemacht. Dafür wurde die Sessile Drop Methode angewendet. Dabei wurde die Membran auf einem Deckglas mit Klebeband befestigt und auf dem Probentisch platziert. Mit einem Tropfengenerator wurde ein Tropfen von 1,5 µL erzeugt und mittels eingespannter Spritze auf die Membran gegeben. Die Interaktion des Tropfens mit der Membran wurde für 180 s beobachtet. Die Aufnahmen wurden mit der Drop Shape Analysis Software und einer Teli-Kamera erstellt.

B.12 Substratsynthese: 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on

2,2,3,3-Tetrafluorobutan-1,4-diol (1 g, 6,17 mmol, 1,00 Äq.) und Triethylamin (1,87 g, 2,57 ml, 18,5 mmol, 3,00 Äq.) wurden in EtOAc (150 ml) gelöst und die Mischung in einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. In einem separaten Kolben wurde Triphosgen (2,75 g, 9,25 mmol, 1,50 Äq.) in EtOAc (50 ml) gelöst und über 15 min tropfenweise zur Reaktionsmischung gegeben. Das Eisbad wurde entfernt und die Reaktion wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktionsmischung wurde 16 h lang bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde bei 40 °C bis 60 °C am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand durch Säulenchromatographie (Säulenmaterial Silica 60, Laufmittel DCM/EtOAc 10:1) gereinigt. Die ersten 79, 81 und 82 Reagenzgläser, mit einem Volumen von 20 ml, wurden nach 24 h unter verminderten Druck eingeengt. Diese Reaktion wurde dreimal durchgeführt und es wurde eine Ausbeute von 95 %, 92 % und von 99 % erhalten. Das Substrat wurde mittels NMR (Kapitel C.3) analysiert. Analytische Daten:

$^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 4,69 (m, 4H, 2x CH_2).

$^{19}\text{F-NMR}$: (101 MHz, CDCl_3) δ [ppm] = 143.70 (CF_2)

FAB-MS m/z (%): 207 [$\text{M}+\text{H}+\text{H}_2\text{O}$] $^+$ (100), 189 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

HRMS-FAB (m/z): [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ calcd. for $\text{C}_5\text{H}_5\text{O}_3\text{F}_4$ 79Br, 189,0169; found, 189,0169.

B.13 Enzymatische Polymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on mit N435

Als Substrat der Polymerisationsreaktion (Monomer) diente das 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on aus B.12. Im ersten Ansatz wurden 100 mg Substrat in 10 mL Toluol bzw. HFIP bzw. in einer 9:1 HFIP:Wasser Mischung gelöst und jeweils 50 mg N435 zur Substratlösung gegeben. Die Reaktionsgemische wurden 16 h lang bei $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Enzym N435 über Glaswolle in einem Glastrichter abfiltriert. Das Lösungsmittel wurde bei 40-60 $^{\circ}\text{C}$ am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Bei allen Proben wurde ein Feststoff erhalten. Die Proben wurden anschließend für die SEC vorbereiten. Dazu wurden sie 16 h bei $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ in THF, dem Eluenten der SEC, gegeben, um die Löslichkeit der Probe zu erhöhen. Die SEC, sowie eine DSC und eine TGA wurden nach Kapitel C.4 & C.5 durchgeführt.

Im zweiten Ansatz wurden Triplets à 50 mg Substrat in 5 mL Toluol gelöst und 15 mg N435 zur Substratlösung gegeben. Die Reaktionsgemische wurden 40 h lang bei $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Nach Reaktionsende wurde das Enzym N435 über Glaswolle in einem Glastrichter abfiltriert. Das Lösungsmittel wurde bei 40-60 $^{\circ}\text{C}$ am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Die Proben wurden anschließend mittels SEC (Kapitel C.4) analysiert. Es wurden drei Kontrollproben angesetzt:

- Monomer behandelt: 50 mg des Substrats wurden in 5 mL Toluol gelöst und 40 h bei 50 $^{\circ}\text{C}$ erhitzt. Nach der Erhitzung wurde das Lösungsmittel bei 40-60 $^{\circ}\text{C}$ im Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt und anschließend mittels SEC analysiert.
- Monomer unbehandelt: Das Monomer wurde mittels SEC analysiert.
- N435 in THF: 5 mg des Enzyms N435 wurden im Eluenten der SEC (3,333 mL THF) gegeben und 40 h bei 50 $^{\circ}\text{C}$ inkubiert. Nach der Inkubation wurde der Überstand mittels SEC analysiert.

B.14 Chemische Polymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on

5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on (1,88 g, 10 mmol, 1,00 Äq.) und Phenylmethanol (43,3 mg, 400 μmol , 0,04 Äq.) wurden in DCM (10 ml) gelöst. In einem separaten Kolben wurde TBD (139 mg, 1 mmol, 0,10 Äq.) in DCM (5 ml) gelöst und tropfenweise über 15 Minuten zu dem Reaktionsgemisch gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 16 h

bei 40 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, und der Rückstand durch Säulenchromatographie (Säulenmaterial Silica 60, Laufmittel DCM/EtOAc 10:1 bis zum reinen EtOAc) gereinigt. Die ersten und zweiten 200 mL des eluierten Lösungsmittels wurden nach der säulenchromatografischen Aufreinigung vereint und unter verminderten Druck eingeeengt. Anschließend wurde eine SEC (Kapitel C.4) sowie eine DSC und TGA (Kapitel C.5) durchgeführt.

B.15 Enzymatische Polymerisation von 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on mit immobilisierter CRL auf Nafion™

Drei CRL-Immobilisate an Nafion™ wurden nach Methode B.10 präpariert. Als Substrat diente das 5,5,6,6-Tetrafluoro-1,3-dioxepan-2-on aus B.12. Je 5 mg des Substrats wurden in 0,5 mL Toluol gelöst. Anschließend wurde je ein CRL-Immobilisat zur Substratlösung gegeben und das Reaktionsgemisch für 16 h bei 50 °C gerührt. Als Kontrolle wurde 5 mg des Substrats in 0,5 mL Toluol gelöst und eine funktionalisierte Membran ohne angebundene CRL hinzugefügt und das Gemisch ebenfalls für 16 h bei 50 °C gerührt. Nach Reaktionsende wurde die Membranen aus dem Reaktionsgemisch geholt und Membran 1, Membran 2 sowie die Kontrolle wurden in DCM gewaschen. Membran 3 wurde im Trockenschrank bei 50 °C getrocknet. Die Proben wurden anschließend per ToF-SIMS (Kapitel C.6) analysiert.

B.16 Herstellung künstlicher Pinholes

Für die Herstellung der künstlichen Pinholes wurde eine Vorrichtung mit Trocknerhaube der Arbeitsgruppe Thin Film Technology (TFT) am KIT verwendet, siehe Abbildung 0-2. Nafion™ Membranen der Abmessung 10x7 cm wurden in die Vorrichtung eingespannt (A). Eine Mikronadel wurde an der Trocknerhaube befestigt und die eingespannte Membran unter der Trocknerhaube positioniert (B). Die Trocknerhaube wurde bis zur Membran abgesenkt (C). Der Vorgang wurde in Schritten von 0,1 mm fortgesetzt, bis die Mikronadelspitze die Membran durchdrungen hatte. Danach wurde die Trocknerhaube wieder in 0,1 mm-Schritten angehoben, um die Nadelspitze aus der Membran zu entfernen. Anschließend wurde die Ausdehnung des Pinholes unter dem Mikroskop VHX-7000 (Keyence) untersucht (D).

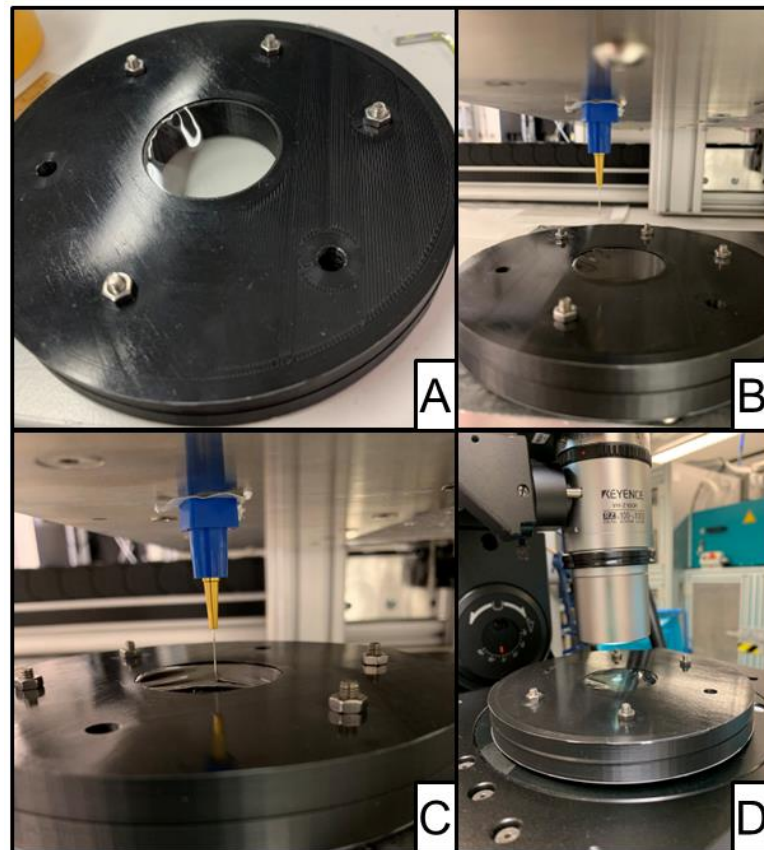


Abbildung 0-2: Abfolge der Herstellung von Pinholes durch Verwendung einer Mikronadel (A_Schwarzer 2023).

B.17 Aufbau zur Bestimmung der Dichtigkeit von Nafion™ Membranen

50-mL-Septumflaschen wurden wie folgt präpariert, um zunächst eine Stickstoffatmosphäre von 100 % einzustellen (siehe Abbildung 0-3). Ein Schlauch mit Kanüle wurde angebracht und die Septumflaschen über einen Massendurchflussregler mit 0,3 L/min für 15 Minuten begast. Zwecks Druckausgleiches wurde eine weitere Kanüle im Kopf der Septumflasche angebracht. Eine Pipettenspitze wurde in die Septumflasche zur Durchmischung gelegt (A). Die Kanüle zum Druckausgleich wurde entfernt und in den Septumflaschen ein Überdruck von 0,1 bar eingestellt, der mit einem Manometer überwacht wurde. Der Schlauch wurde 5 Sekunden lang mit 1 mL/min reinem Wasserstoff gespült. Die zuvor verwendeten Septumflaschen wurden dann entweder direkt durch den Schlauch des Massendurchflussreglers mit 1 mL/min für 10 Minuten mit reinem Wasserstoff begast oder es wurde der nachfolgend beschriebene Aufbau zur Prüfung der Dichtigkeit der Nafion™- Membran durchgeführt (B).

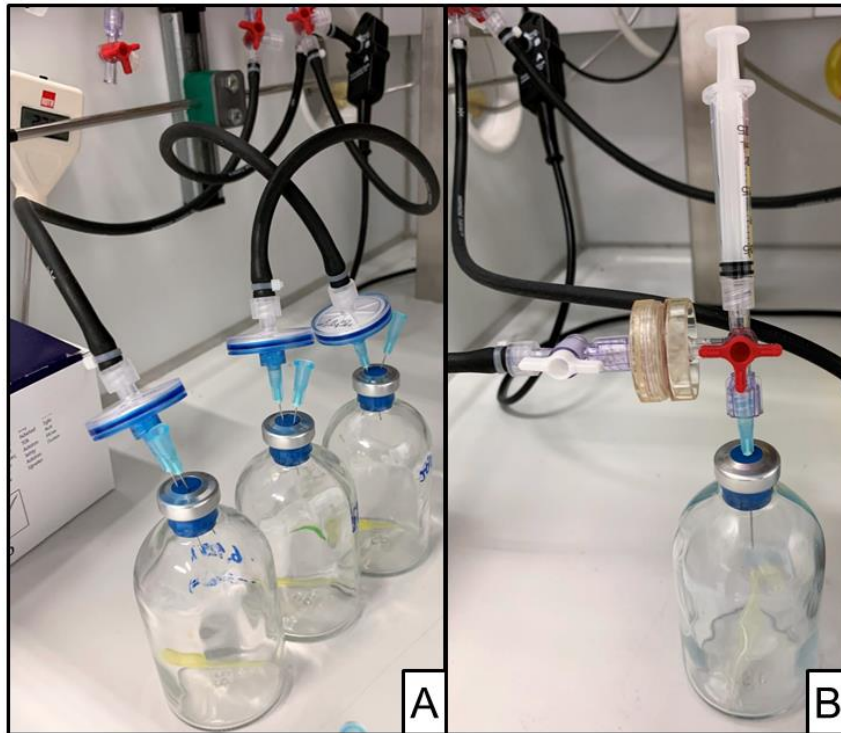


Abbildung 0-3: Ablauf der Begasung zur Feststellung des Selbstheilungseffekts (A_Schwarzer 2023).

Am Begasungsschlauch wurde ein Ventil angebracht, das einen Plastikfilterhalter mit sich führte. Der Filterhalter hatte einen Durchmesser von 25 mm, weshalb die verwendeten Nafion™-Membranen diesen Durchmesser aufweisen mussten. Am Ausgang des Filterhalters befand sich ein Dreizehnhahn, an dem eine 2,5 mL Spritze und eine Kanüle befestigt waren. Die Kanüle führte in die zuvor behandelte, verschlossene Septumflasche.

Zu Beginn der Begasung mit reinem Wasserstoff wurde das Ventil vor dem Filterhalter geöffnet. Die Begasung dauerte 10 min bei einer Flussrate von 1 mL/min. Dabei wurde der Dreizehnhahn nur vom Filterhalterausgang zur Septumflasche geöffnet. Nach den 10 min Begasung wurde das Ventil vor dem Filterhalter geschlossen und der Dreizehnhahn am Ausgang des Filterhalters zur Spritze geöffnet. Anschließend wurde 0,5 mL aus der Spritze entnommen, um den verbleibenden Wasserstoff im Filterhalter aufzunehmen. Dabei wurde darauf geachtet, dass das aufgezogene Spritzenvolumen aufgrund des angelegten Unterdrucks konstant blieb. Anschließend wurde der Dreizehnhahn direkt von der Spritze zur Septumflasche geöffnet und der Inhalt der Spritze in die Septumflasche übertragen. Das Probenahmeverfahren erfolgte durch Entfernen des Aufbaus mit einer Kanüle aus der verschlossenen Septumflasche. Der Druck wurde

anschließend mit einem Manometer gemessen. Um die Atmosphäre in der Flasche zu optimieren, wurde die Flasche für 10 s geschüttelt. Danach wurde eine 3 mL Probe aus der Septumflasche entnommen und in den Gaschromatographen eingeführt. Nach der Probenahme wurde der Druck in der verschlossenen Septumflasche erneut gemessen. Für die Gaschromatographie wurde Argon als Trägergas verwendet. Die Säule des Gaschromatographen war Rt-Msieve 5A, die bei einer Temperatur von 80 °C betrieben wurde. Die Analysezeit für die Proben betrug 115 s.

C. Messungen & Analytische Methoden

C.1 Quantifizierung der Enzymaktivität per *p*-NPA Assay

Zur Quantifizierung der Enzymaktivitäten der Lipase aus *Candida rugosa* (CRL) und die Lipase B aus *Candida antarctica* (CALB) wurde ein *para*-Nitrophenol-Acetat Assay (*p*-NPA Assay) mit photometrisch nachweisbarer Farbumschlagsreaktion etabliert. Der Assay wurde standardmäßig bei Raumtemperatur (23 °C) durchgeführt.

Für die freien Lipasen wurde die Stammlösung auf 0,1 g/L verdünnt. Lipaselösungen (495 µL) wurden in dreifacher Ausführung in Kunststoffröhrchen gegeben, wobei 495 µL Phosphatpuffer als Blank verwendet wurden.

Für immobilisierte Lipasen an Polypropylen (PP) wurden die Membranen in Kunststoffröhrchen mit 495 µL Phosphatpuffer vollständig bedeckt. 5 µL der Substratlösung (5 mM *p*-NPA gelöst in Ethanol) wurde hinzugefügt, mit dem Vortex 5 s gemischt und für 20 min inkubiert (1000 U/min, 23 °C), erneut 5 s gemischt. 200 µL der Triplikate wurden in eine 96-Well-Mikrotiterplatten pipettiert und die Absorption bei 410 nm sofort mit einem Mikroplattenphotometer gemessen. Zusätzlich wurde ein Referenzwert in Triplikaten zu jedem Assay erstellt. Dafür wurde das gleiche Volumen an Phosphatpuffer, sowie Substratlösung in ein Reaktionsgefäß gegeben und analog inkubiert und gemessen.

Für immobilisierte Lipasen an NafionTM wurde analog zu den immobilisierten Lipasen an PP vorgegangen. Es wurde besonders darauf geachtet, dass die Membran aufrecht im unteren Teil des Reaktionsgefäßes steht und nicht an der Wand festhängt oder auf der Assaylösung schwimmt. Die Inkubationszeit lag bei 20 min oder 60 min.

C.2 Fluoreszenzmikroskopie

Die Fluoreszenzmikroskopie wurde mit einem aufrechten Mikroskop (Axio-Imager M2, Zeiss, Deutschland) durchgeführt, das mit einer LED-Lichtquelle (Colibri 7, Zeiss, Deutschland) und einer 100-fachen Vergrößerung ausgestattet war.

C.3 NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren wurden auf folgendem Gerät aufgenommen: ¹H-NMR: Bruker Advance 400 (400 MHz). Alle Spektren wurden bei Raumtemperatur aufgenommen. Als Lösungsmittel wurde Chloroform-d₁ verwendet. Chemische Verschiebungen δ wurden

in parts per million (ppm) angegeben, dabei diente als Referenz für ^1H -NMR Spektroskopie das Restprotonensignal des Lösungsmittels: Chloroform (^1H : $\delta = 7.26$ ppm). Die Multiplizitäten der Signale wurden wie folgt abgekürzt, bzw. als eine Kombination dieser Abkürzungen angegeben: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, b = breites Singulett, m = Multiplett, mc = zentriertes Multiplett. Die Spektren wurden nach 1. Ordnung ausgewertet. Sämtliche Kopplungskonstanten wurden als Betrag in Herz (Hz) angegeben. Die Messungen wurden vom Soft Matter Synthesis Labor des KIT durchgeführt und ausgewertet.

C.4 Größenausschlusschromatographie (SEC)

Die Polymerisate und das Monomer wurden vor der Messung im Eluent THF mit einer Konzentration von 1 g/L gelöst und teilweise durch einen Cellulosefilter (Porengröße 0,2 μm) filtriert. Ein SEC-System von Agilent Technologies, bestehend aus einem Autosampler, einer SDV 10 μm Guard-Säule (PSS), gefolgt von drei SDV 5 μm Säulen (100 Å Porengröße, PSS), einem Differential-Refraktionsindex-Detektor und zwei UV-Vis-Detektoren, eingestellt auf 254 nm wurde verwendet. THF wurde als Eluent bei 35 °C und einem Fluss von 1,0 mL/min verwendet. Das SEC-System wurde mit linearen PMMA-Standards kalibriert. Die Berechnung der Molmasse erfolgte durch eine relative Kalibrierung auf der Basis von PMMA-Standards unter Verwendung der Mark-Houwink-Sakurada (MHS)-Parameter für PMMA in THF bei 30 °C. Die Messungen wurden vom Soft Matter Synthesis Labor des KIT durchgeführt.

C.5 Differenzkalorimetrie (DSC) und Thermogravimetrische Analyse (TGA)

Die thermischen Eigenschaften wurden mit einer DSC 2500 bei einer Heizrate von 10 °C/min zwischen -80 °C und 160 °C in TA Tzero Probenhaltern gemessen. Die Kristallisationstemperatur der Probe T_k wurde im Abkühlldurchgang ermittelt. Die Glasübergangstemperatur T_g und die Schmelztemperatur T_m wurden im zweiten Heizdurchgang bestimmt. Die Daten wurden mittels der TRIOS onboard Software analysiert.

Für das Polymerisat in HFIP wurde eine TGA mit dem Gerät TGA 5500 unter Stickstoffatmosphäre bei einer Heizrate von 10 °C/min zwischen 30 °C und 1000 °C in einer Platin HT Pfanne durchgeführt. Das Probengewicht lag bei 2,7 g. Die Zersetzungstemperatur T_{deg} wurde als jene Temperatur festgelegt, bei der die Probe einen Gewichtsverlust

von 5 % aufweist. Die Daten wurden mittels der TRIOS onboard Software analysiert. Die Messungen wurden vom Soft Matter Synthesis Labor des KIT durchgeführt.

C.6 Flugzeit-Sekundärionen-Massenspektrometrie (ToF-SIMS)

ToF-SIMS-Analyse wurde mit einem TOF.SIMS5-Instrument (ION-TOF GmbH, Münster, Deutschland) durchgeführt. Das Spektrometer ist mit einer Bismuth (Bi)-Flüssigkeitscluster-Primärionenquelle sowie einem Flugzeit-Analysator ausgestattet. Der Basisdruck der Ultrahochvakuum-Anlage lag unterhalb von 5×10^{-8} mbar. Um eine hohe Massenauflösung zu erreichen, wurde die Bi-Quelle im „high current bunched-Modus“ betrieben, wodurch 1,30 ns Bi_3^+ Primärionenpulse bei 25 keV Energie, eine laterale Auflösung von ca. 4 μm und ein Zielstrom von 0,32-0,45 pA bei 100 μs Zykluszeit erzeugt wurden. Der primäre Ionenstrahl wurde über ein Sichtfeld von $500 \times 500 \mu\text{m}^2$ auf der Probe gescannt, wobei 128×128 Datenpunkte aufgenommen wurden. Die Spektren wurden an den allgegenwärtigen Peaks C^- , CH^- , OH^- , C_2^- , CF^- , S^- kalibriert. Auf Basis der vorliegenden Datensätze konnten die chemischen Zuordnungen für charakteristische Fragmente ermittelt werden.

Im Rahmen der Tiefenprofilierung wurde eine Zweistrahlanalyse im „non-interlaced-Modus“ durchgeführt. Zur Erosion der Probe wurde eine Sputterkanone mit Ar_{1300}^+ Ionen bei einer Energie von 5 keV eingesetzt, welche über ein konzentrisches Feld von $750 \times 750 \mu\text{m}^2$ mit einem Zielstrom von 2,5-2,7 nA scannte. Der primäre Ionenstrahl wurde über ein $500 \times 500 \mu\text{m}^2$ großes, im Krater zentriertes Sichtfeld mit einem Zielstrom von 0,21-0,35 pA bei 100 μs Zykluszeit geführt, wobei 128×128 Datenpunkte aufgenommen wurden. Die Spektren der Tiefenprofilierung wurden an den allgegenwärtigen Peaks C^- , CH_2^- , OH^- , CN^- , SO_2^- kalibriert. Auf Basis der vorliegenden Datensätze konnten die chemischen Zuordnungen für charakteristische Fragmente ermittelt werden. Die aufgrund unerwarteter Ladungseffekte während der Tiefenprofilierung erforderliche Verschiebung der Kalibrierung wurde mittels der erweiterten ToF-Korrektur (Tiefe) der Onboard-Software korrigiert. Die Messungen wurden vom Soft Matter Synthesis Labor des KIT durchgeführt.

D. Weitere Ergebnisse

Weitere SEC-Chromatogramme des enzymatischen Polymerisats:

Die zahlenmittleren Molmassen der Polymerpeaks betragen für das Polymerisat in HFIP $M_n = 3,41 \cdot 10^3 \text{ g/mol}$ und für das Polymerisat in 90 Gew.-% HFIP $M_n = 2,82 \cdot 10^3 \text{ g/mol}$

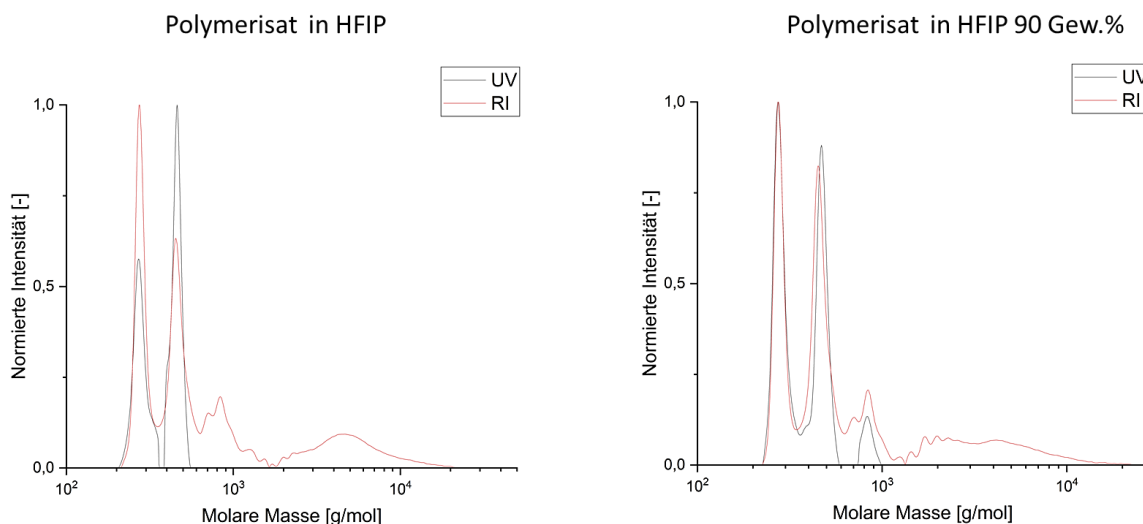


Abbildung 0-4: SEC-Chromatogramme. Darstellung der Molmassenverteilung der fluorierten Polymerisate Poly-2,2,3,3-tetrafluoro-butyl-carbonat durch N435 in HFIP im ersten Ansatz.

Weitere DSC Messungen des enzymatischen Polymerisats:

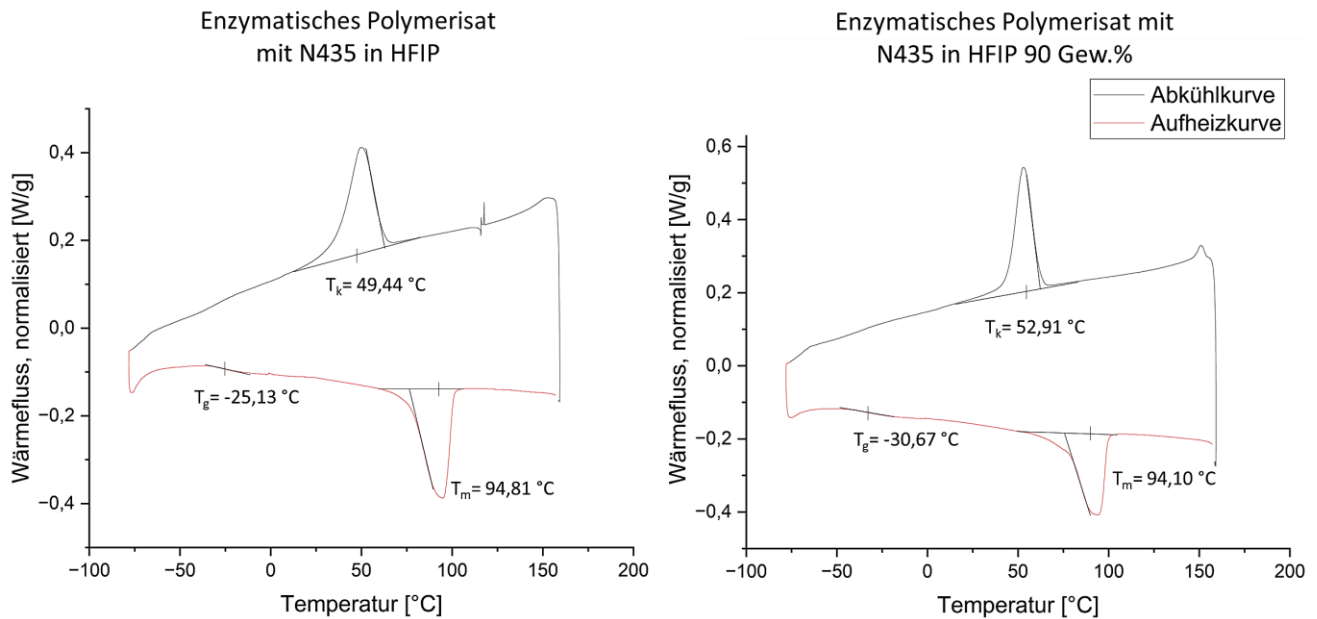


Abbildung 0-5: DSC Kurven der fluorierten Polymerisate 1-3 Poly-2,2,3,3-tetrafluorobutyl-carbonat durch N435 in HFIP.

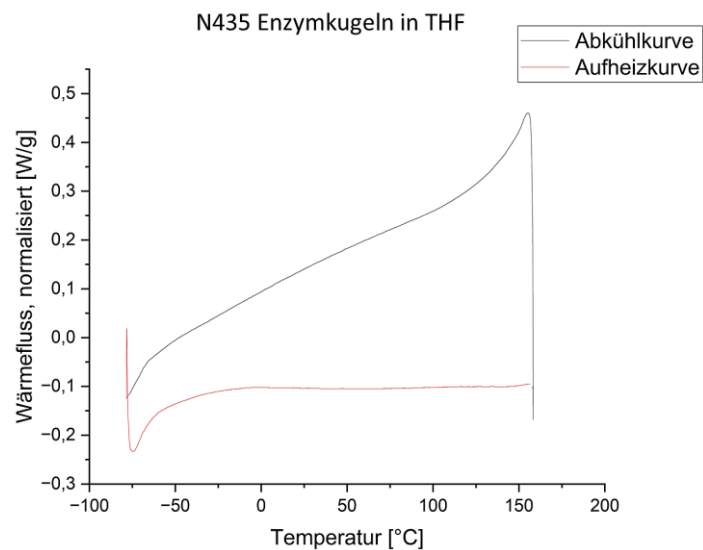


Abbildung 0-6: DSC Kurve der Kontrolle: N435 in THF.

E. Auszeichnungen des Projektes BioHealing

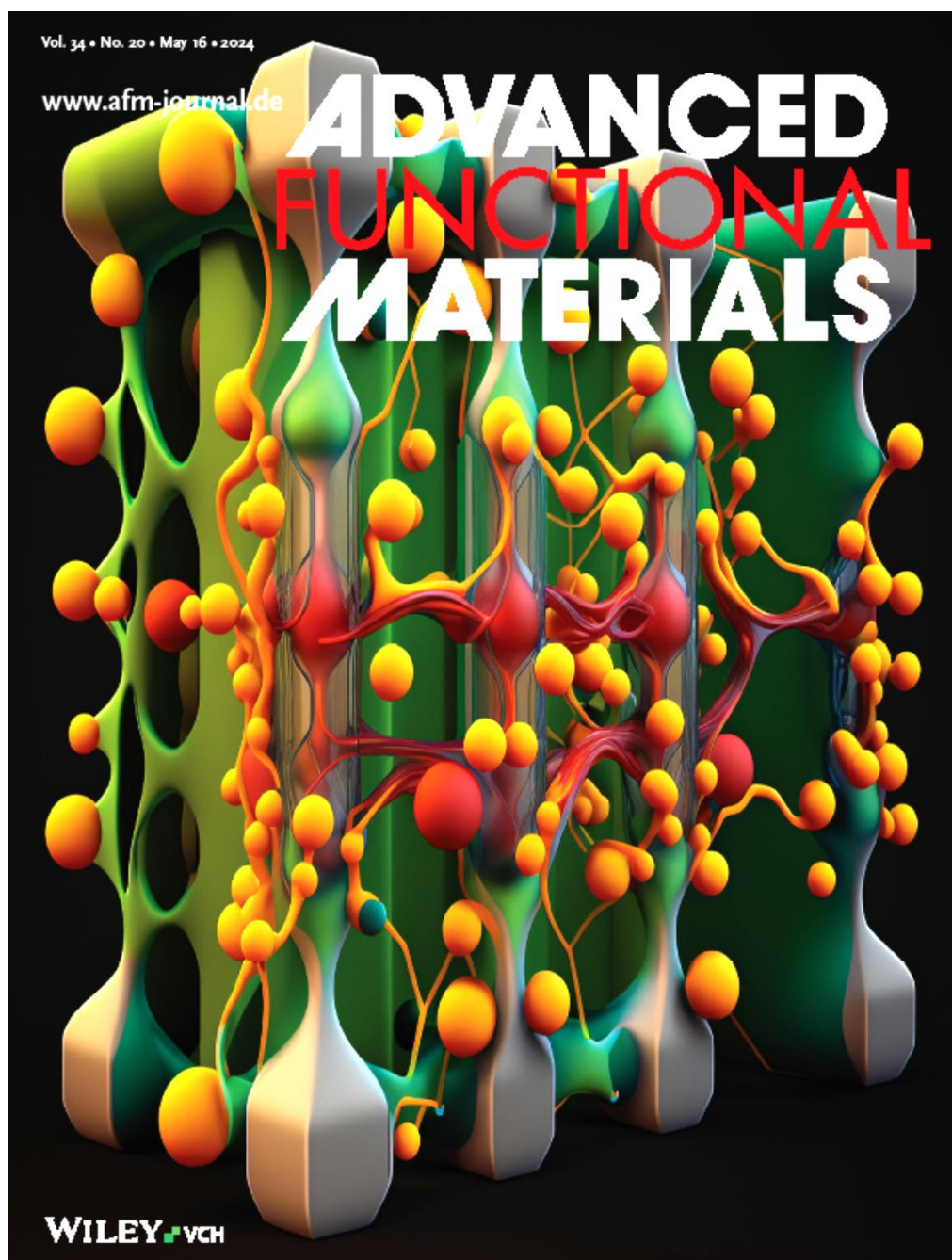
NEULAND 2022 Innovationswettbewerb des KIT, 3. Platz, „Mechanismus für die Selbstheilende Brennstoffzelle“.



NEO 2023 Innovationswettbewerb der Technologieregion Karlsruhe, nominiert unter den Top 5 von 52 deutschlandweit eingereichten Projekten für innovative Materialien, Platz 2 im Publikumsvoting „Selbstheilungsmechanismus für die Brennstoffzelle“.



Inside Back Cover, Selective Peptide Binders to the Perfluorinated Sulfonic Acid Ionomer Nafion (Adv. Funct. Mater. 20/2024):



Nafion. Selective non-covalent binding to technical polymers opens avenues for innovative fuel cell membrane design at the molecular level. In article number 2214932, Patrizia Gartner, Alexander Nesterov-Mueller, and co-workers introduce a novel screening technique to pinpoint specific peptide binders for Nafion ionomers. Using peptide chip methodology, they identify the conserved amino acids responsible for ionomer binding.

Forschungsberichte aus dem wbk
Institut für Produktionstechnik
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

Bisher erschienene Bände:

Band 0

Dr.-Ing. Wu Hong-qi

**Adaptive Volumenstromregelung mit Hilfe von drehzahlgeregelten
Elektroantrieben**

Band 1

Dr.-Ing. Heinrich Weiß

**Fräsen mit Schneidkeramik - Verhalten des System
Werkzeugmaschine-Werkzeug-Werkstück und Prozessanalyse**

Band 2

Dr.-Ing. Hans-Jürgen Stierle

**Entwicklung und Untersuchung hydrostatischer Lager für die
Axialkolbenmaschine**

Band 3

Dr.-Ing. Herbert Hörner

Untersuchung des Geräuschverhaltens druckgeregelter Axialkolbenpumpen

Band 4

Dr.-Ing. Rolf-Dieter Brückbauer

**Digitale Drehzahlregelung unter der besonderen Berücksichtigung
von Quantisierungseffekten**

Band 5

Dr.-Ing. Gerhard Staiger

Graphisch interaktive NC-Programmierung von Drehteilen im Werkstattbereich

Band 6

Dr.-Ing. Karl Peters

**Ein Beitrag zur Berechnung und Kompensation von Positionierfehlern an
Industrierobotern**

Band 7

Dr.-Ing. Paul Stauss

Automatisierte Inbetriebnahme und Sicherung der Zuverlässigkeit und Verfügbarkeit numerisch gesteuerter Fertigungseinrichtungen

Band 8

Dr.-Ing. Günter Möckesch

Konzeption und Realisierung eines strategischen, integrierten Gesamtplanungs- und -bearbeitungssystems zur Optimierung der Drehteilorganisation für auftragsbezogene Drehereien

Band 9

Dr.-Ing. Thomas Oestreicher

Rechnergestützte Projektierung von Steuerungen

Band 10

Dr.-Ing. Thomas Selinger

Teilautomatisierte werkstattnahe NC-Programmerstellung im Umfeld einer integrierten Informationsverarbeitung

Band 11

Dr.-Ing. Thomas Buchholz

Prozessmodell Fräsen, Rechnerunterstützte Analyse, Optimierung und Überwachung

Band 12

Dr.-Ing. Bernhard Reichling

Lasergestützte Positions- und Bahnvermessung von Industrierobotern

Band 13

Dr.-Ing. Hans-Jürgen Lesser

Rechnergestützte Methoden zur Auswahl anforderungsgerechter Verbindungselemente

Band 14

Dr.-Ing. Hans-Jürgen Lauffer

Einsatz von Prozessmodellen zur rechnerunterstützten Auslegung von Räumwerkzeugen

Band 15

Dr.-Ing. Michael C. Wilhelm

Rechnergestützte Prüfplanung im Informationsverbund moderner Produktionssysteme

Band 16

Dr.-Ing. Martin Ochs

Entwurf eines Programmsystems zur wissensbasierten Planung und Konfigurierung

Band 17

Dr.-Ing. Heinz-Joachim Schneider

Erhöhung der Verfügbarkeit von hochautomatisierten Produktionseinrichtungen mit Hilfe der Fertigungsleittechnik

Band 18

Dr.-Ing. Hans-Reiner Ludwig

Beanspruchungsanalyse der Werkzeugschneiden beim Stirnplanfräsen

Band 19

Dr.-Ing. Rudolf Wieser

Methoden zur rechnergestützten Konfigurierung von Fertigungsanlagen

Band 20

Dr.-Ing. Edgar Schmitt

Werkstattsteuerung bei wechselnder Auftragsstruktur

Band 21

Dr.-Ing. Wilhelm Enderle

Verfügbarkeitssteigerung automatisierter Montagesysteme durch selbsttätige Behebung prozessbedingter Störungen

Band 22

Dr.-Ing. Dieter Buchberger

Rechnergestützte Strukturplanung von Produktionssystemen

Band 23

Prof. Dr.-Ing. Jürgen Fleischer

Rechnerunterstützte Technologieplanung für die flexibel automatisierte Fertigung von Abkantteilen

Band 24

Dr.-Ing. Lukas Loeffler

Adaptierbare und adaptive Benutzerschnittstellen

Band 25

Dr.-Ing. Thomas Friedmann

Integration von Produktentwicklung und Montageplanung durch neue rechnergestützte Verfahren

Band 26

Dr.-Ing. Robert Zurrin

Variables Formhonen durch rechnergestützte Hornprozesssteuerung

Band 27

Dr.-Ing. Karl-Heinz Bergen

Langhub-Innenrundhonen von Grauguss und Stahl mit einem elektromechanischem Vorschubsystem

Band 28

Dr.-Ing. Andreas Liebisch

Einflüsse des Festwalzens auf die Eigenspannungsverteilung und die Dauerfestigkeit einsatzgehärteter Zahnräder

Band 29

Dr.-Ing. Rolf Ziegler

Auslegung und Optimierung schneller Servopumpen

Band 30

Dr.-Ing. Rainer Bartl

Datenmodellgestützte Wissensverarbeitung zur Diagnose und Informationsunterstützung in technischen Systemen

Band 31

Dr.-Ing. Ulrich Golz

Analyse, Modellbildung und Optimierung des Betriebsverhaltens von Kugelgewindetrieben

Band 32

Dr.-Ing. Stephan Timmermann

Automatisierung der Feinbearbeitung in der Fertigung von Hohlformwerkzeugen

Band 33

Dr.-Ing. Thomas Noe

Rechnergestützter Wissenserwerb zur Erstellung von Überwachungs- und Diagnoseexpertensystemen für hydraulische Anlagen

Band 34

Dr.-Ing. Ralf Lenschow

Rechnerintegrierte Erstellung und Verifikation von Steuerungsprogrammen als Komponente einer durchgängigen Planungsmethodik

Band 35

Dr.-Ing. Matthias Kallabis

Räumen gehärteter Werkstoffe mit kristallinen Hartstoffen

Band 36

Dr.-Ing. Heiner-Michael Honeck

Rückführung von Fertigungsdaten zur Unterstützung einer fertigungsgerechten Konstruktion

Band 37

Dr.-Ing. Manfred Rohr

Automatisierte Technologieplanung am Beispiel der Komplettbearbeitung auf Dreh-/Fräszellen

Band 38

Dr.-Ing. Martin Steuer

Entwicklung von Softwarewerkzeugen zur wissensbasierten Inbetriebnahme von komplexen Serienmaschinen

Band 39

Dr.-Ing. Siegfried Beichter

Rechnergestützte technische Problemlösung bei der Angebotserstellung von flexiblen Drehzellen

Band 40

Dr.-Ing. Thomas Steitz

Methodik zur marktorientierten Entwicklung von Werkzeugmaschinen mit Integration von funktionsbasierter Strukturierung und Kostenschätzung

Band 41

Dr.-Ing. Michael Richter

Wissensbasierte Projektierung elektrohydraulischer Regelungen

Band 42

Dr.-Ing. Roman Kuhn

Technologieplanungssystem Fräsen. Wissensbasierte Auswahl von Werkzeugen, Schneidkörpern und Schnittbedingungen für das Fertigungsverfahren Fräsen

Band 43

Dr.-Ing. Hubert Klein

Rechnerunterstützte Qualitätssicherung bei der Produktion von Bauteilen mit frei geformten Oberflächen

Band 44

Dr.-Ing. Christian Hoffmann

Konzeption und Realisierung eines fertigungsintegrierten Koordinatenmessgerätes

Band 45

Dr.-Ing. Volker Frey

Planung der Leittechnik für flexible Fertigungsanlagen

Band 46

Dr.-Ing. Achim Feller

Kalkulation in der Angebotsphase mit dem selbsttätig abgeleiteten Erfahrungswissen der Arbeitsplanung

Band 47

Dr.-Ing. Markus Klaiber

Produktivitätssteigerung durch rechnerunterstütztes Einfahren von NC-Programmen

Band 48

Dr.-Ing. Roland Minges

Verbesserung der Genauigkeit beim fünfsichtigen Fräsen von Freiformflächen

Band 49

Dr.-Ing. Wolfgang Bernhart

Beitrag zur Bewertung von Montagevarianten: Rechnergestützte Hilfsmittel zur kostenorientierten, parallelen Entwicklung von Produkt und Montage system

Band 50

Dr.-Ing. Peter Ganghoff

**Wissensbasierte Unterstützung der Planung technischer Systeme:
Konzeption eines Planungswerkzeuges und exemplarische Anwendung
im Bereich der Montagesystemplanung**

Band 51

Dr.-Ing. Frank Maier

**Rechnergestützte Prozessregelung beim flexiblen Gesenkbiegen durch
Rückführung von Qualitätsinformationen**

Band 52

Dr.-Ing. Frank Debus

**Ansatz eines rechnerunterstützten Planungsmanagements für die Planung
in verteilten Strukturen**

Band 53

Dr.-Ing. Joachim Weinbrecht

**Ein Verfahren zur zielorientierten Reaktion auf Planabweichungen in der
Werkstattregelung**

Band 54

Dr.-Ing. Gerd Herrmann

**Reduzierung des Entwicklungsaufwandes für anwendungsspezifische
Zellenrechnersoftware durch Rechnerunterstützung**

Band 55

Dr.-Ing. Robert Wassmer

**Verschleissentwicklung im tribologischen System Fräsen: Beiträge
zur Methodik der Prozessmodellierung auf der Basis tribologischer
Untersuchungen beim Fräsen**

Band 56

Dr.-Ing. Peter Uebelhoer

Inprocess-Geometriemessung beim Honen

Band 57

Dr.-Ing. Hans-Joachim Schelberg

Objektorientierte Projektierung von SPS-Software

Band 58

Dr.-Ing. Klaus Boes

Integration der Qualitätsentwicklung in featurebasierte CAD/CAM-Prozessketten

Band 59

Dr.-Ing. Martin Schreiber

Wirtschaftliche Investitionsbewertung komplexer Produktionssysteme unter Berücksichtigung von Unsicherheit

Band 60

Dr.-Ing. Ralf Steuernagel

Offenes adaptives Engineering-Werkzeug zur automatisierten Erstellung von entscheidungsunterstützenden Informationssystemen

Band 62

Dr.-Ing. Uwe Schauer

Qualitätsorientierte Feinbearbeitung mit Industrierobotern: Regelungsansatz für die Freiformflächenfertigung des Werkzeug- und Formenbaus

Band 63

Dr.-Ing. Simone Loeper

Kennzahlengestütztes Beratungssystem zur Verbesserung der Logistikleistung in der Werkstattfertigung

Band 64

Dr.-Ing. Achim Raab

Räumen mit hartstoffbeschichteten HSS-Werkzeugen

Band 65,

Dr.-Ing. Jan Erik Burghardt

Unterstützung der NC-Verfahrenskette durch ein bearbeitungselementorientiertes, lernfähiges Technologieplanungssystem

Band 66

Dr.-Ing. Christian Tritsch

Flexible Demontage technischer Gebrauchsgüter: Ansatz zur Planung und (teil-)automatisierten Durchführung industrieller Demontageprozesse

Band 67

Dr.-Ing. Oliver Eitrich

Prozessorientiertes Kostenmodell für die entwicklungsbegleitende Vorkalkulation

Band 68

Dr.-Ing. Oliver Wilke

Optimierte Antriebskonzepte für Räummaschinen - Potentiale zur Leistungssteigerung

Band 69

Dr.-Ing. Thilo Sieth

Rechnergestützte Modellierungsmethodik zerspantechnologischer Prozesse

Band 70

Dr.-Ing. Jan Linnenbuerger

Entwicklung neuer Verfahren zur automatisierten Erfassung der geometrischen Abweichungen an Linearachsen und Drehschwenkköpfen

Band 71

Dr.-Ing. Mathias Klimmek

Fraktionierung technischer Produkte mittels eines frei beweglichen Wasserstrahlwerkzeuges

Band 72

Dr.-Ing. Marko Hartel

Kennzahlenbasiertes Bewertungssystem zur Beurteilung der Demontage- und Recyclingeignung von Produkten

Band 73

Dr.-Ing. Jörg Schaupp

Wechselwirkung zwischen der Maschinen- und Hauptspindelantriebsdynamik und dem Zerspanprozess beim Fräsen

Band 74

Dr.-Ing. Bernhard Neisius

Konzeption und Realisierung eines experimentellen Telemanipulators für die Laparoskopie

Band 75

Dr.-Ing. Wolfgang Walter

Erfolgsversprechende Muster für betriebliche Ideenfindungsprozesse. Ein Beitrag zur Steigerung der Innovationsfähigkeit

Band 76

Dr.-Ing. Julian Weber

Ein Ansatz zur Bewertung von Entwicklungsergebnissen in virtuellen Szenarien

Band 77

Dr.-Ing. Dipl. Wirtsch.-Ing. Markus Posur

Unterstützung der Auftragsdurchsetzung in der Fertigung durch Kommunikation über mobile Rechner

Band 78

Dr.-Ing. Frank Fleissner

Prozessorientierte Prüfplanung auf Basis von Bearbeitungsobjekten für die Kleinserienfertigung am Beispiel der Bohr- und Fräsbearbeitung

Band 79

Dr.-Ing. Anton Haberkern

Leistungsfähigere Kugelgewindetriebe durch Beschichtung

Band 80

Dr.-Ing. Dominik Matt

Objektorientierte Prozess- und Strukturinnovation (OPUS)

Band 81

Dr.-Ing. Jürgen Andres

Robotersysteme für den Wohnungsbau: Beitrag zur Automatisierung des Mauerwerkbaus und der Elektroinstallation auf Baustellen

Band 82

Dr.-Ing. Dipl. WirtschaftsIng. Simone Riedmiller

Der Prozesskalender - Eine Methodik zur marktorientierten Entwicklung von Prozessen

Band 83

Dr.-Ing. Dietmar Tilch

Analyse der Geometrieparameter von Präzisionsgewinden auf der Basis einer Least-Squares-Estimation

Band 84

Dr.-Ing. Dipl.-Kfm. Oliver Stiefbold

Konzeption eines reaktionsschnellen Planungssystems für Logistikketten auf Basis von Software-Agenten

Band 85

Dr.-Ing. Ulrich Walter

Einfluss von Kühlschmierstoff auf den Zerspanprozess beim Fräsen: Beitrag zum Prozessverständnis auf Basis von zerspantechnischen Untersuchungen

Band 86

Dr.-Ing. Bernd Werner

Konzeption von teilautonomer Gruppenarbeit unter Berücksichtigung kultureller Einflüsse

Band 87

Dr.-Ing. Ulf Osmer

Projektieren Speicherprogrammierbarer Steuerungen mit Virtual Reality

Band 88

Dr.-Ing. Oliver Doerfel

**Optimierung der Zerspantechnik beim Fertigungsverfahren
Wälzstossen: Analyse des Potentials zur Trockenbearbeitung**

Band 89

Dr.-Ing. Peter Baumgartner

Stufenmethode zur Schnittstellengestaltung in der internationalen Produktion

Band 90

Dr.-Ing. Dirk Vossman

**Wissensmanagement in der Produktentwicklung durch Qualitäts-
methodenverbund und Qualitätsmethodenintegration**

Band 91

Dr.-Ing. Martin Plass

**Beitrag zur Optimierung des Honprozesses durch den Aufbau einer
Honprozessregelung**

Band 92

Dr.-Ing. Titus Konold

**Optimierung der Fünffachsfräsbearbeitung durch eine kennzahlen-
unterstützte CAM-Umgebung**

Band 93

Dr.-Ing. Jürgen Brath

Unterstützung der Produktionsplanung in der Halbleiterfertigung durch risikoberücksichtigende Betriebskennlinien

Band 94

Dr.-Ing. Dirk Geisinger

Ein Konzept zur marktorientierten Produktentwicklung

Band 95

Dr.-Ing. Marco Lanza

Entwurf der Systemunterstützung des verteilten Engineering mit Axiomatic Design

Band 96

Dr.-Ing. Volker Hüntrup

Untersuchungen zur Mikrostrukturierbarkeit von Stählen durch das Fertigungsverfahren Fräsen

Band 97

Dr.-Ing. Frank Reinboth

Interne Stützung zur Genauigkeitsverbesserung in der Inertialmesstechnik: Beitrag zur Senkung der Anforderungen an Inertialsensoren

Band 98

Dr.-Ing. Lutz Trender

Entwicklungsintegrierte Kalkulation von Produktlebenszykluskosten auf Basis der ressourcenorientierten Prozesskostenrechnung

Band 99

Dr.-Ing. Cornelia Kafka

Konzeption und Umsetzung eines Leitfadens zum industriellen Einsatz von Data-Mining

Band 100

Dr.-Ing. Gebhard Selinger

Rechnerunterstützung der informellen Kommunikation in verteilten Unternehmensstrukturen

Band 101

Dr.-Ing. Thomas Windmüller

Verbesserung bestehender Geschäftsprozesse durch eine mitarbeiterorientierte Informationsversorgung

Band 102

Dr.-Ing. Knud Lembke

Theoretische und experimentelle Untersuchung eines bistabilen elektrohydraulischen Linearantriebs

Band 103

Dr.-Ing. Ulrich Thies

Methode zur Unterstützung der variantengerechten Konstruktion von industriell eingesetzten Kleingeräten

Band 104

Dr.-Ing. Andreas Schmäzle

Bewertungssystem für die Generalüberholung von Montageanlagen –Ein Beitrag zur wirtschaftlichen Gestaltung geschlossener Facility- Managment-Systeme im Anlagenbau

Band 105

Dr.-Ing. Thorsten Frank

Vergleichende Untersuchungen schneller elektromechanischer Vorschubachsen mit Kugelgewindetrieb

Band 106

Dr.-Ing. Achim Agostini

Reihenfolgeplanung unter Berücksichtigung von Interaktionen: Beitrag zur ganzheitlichen Strukturierung und Verarbeitung von Interaktionen von Bearbeitungsobjekten

Band 107

Dr.-Ing. Thomas Barrho

Flexible, zeitfenstergesteuerte Auftragseinplanung in segmentierten Fertigungsstrukturen

Band 108

Dr.-Ing. Michael Scharer

Quality Gate-Ansatz mit integriertem Risikomanagement

Band 109

Dr.-Ing. Ulrich Suchy

**Entwicklung und Untersuchung eines neuartigen Mischkopfes für das Wasser
Abrasive Strahlschneiden**

Band 110

Dr.-Ing. Sellal Mussa

Aktive Korrektur von Verlagerungsfehlern in Werkzeugmaschinen

Band 111

Dr.-Ing. Andreas Hühsam

Modellbildung und experimentelle Untersuchung des Wälzschälprozesses

Band 112

Dr.-Ing. Axel Plutowsky

**Charakterisierung eines optischen Messsystems und den Bedingungen des
Arbeitsraums einer Werkzeugmaschine**

Band 113

Dr.-Ing. Robert Landwehr

**Konsequent dezentralisierte Steuerung mit Industrial Ethernet und offenen
Applikationsprotokollen**

Band 114

Dr.-Ing. Christoph Dill

Turbulenzreaktionsprozesse

Band 115

Dr.-Ing. Michael Baumeister

Fabrikplanung im turbulenten Umfeld

Band 116

Dr.-Ing. Christoph Gönninger

**Konzept zur Verbesserung der Elektromagnetischen Verträglichkeit (EMV) in
Produktionssystemen durch intelligente Sensor/Aktor-Anbindung**

Band 117

Dr.-Ing. Lutz Demuß

**Ein Reifemodell für die Bewertung und Entwicklung von Dienstleistungs-
organisationen: Das Service Management Maturity Modell (SMMM)**

Band 118

Dr.-Ing. Jörg Söhner

Beitrag zur Simulation zerspanungstechnologischer Vorgänge mit Hilfe der Finite-Element-Methode

Band 119

Dr.-Ing. Judith Elsner

Informationsmanagement für mehrstufige Mikro-Fertigungsprozesse

Band 120

Dr.-Ing. Lijing Xie

Estimation Of Two-dimension Tool Wear Based On Finite Element Method

Band 121

Dr.-Ing. Ansgar Blessing

Geometrischer Entwurf mikromechatronischer Systeme

Band 122

Dr.-Ing. Rainer Ebner

Steigerung der Effizienz mehrachsiger Fräsprozesse durch neue Planungsmethoden mit hoher Benutzerunterstützung

Band 123

Dr.-Ing. Silja Klinkel

Multikriterielle Feinplanung in teilautonomen Produktionsbereichen – Ein Beitrag zur produkt- und prozessorientierten Planung und Steuerung

Band 124

Dr.-Ing. Wolfgang Neithardt

Methodik zur Simulation und Optimierung von Werkzeugmaschinen in der Konzept- und Entwurfsphase auf Basis der Mehrkörpersimulation

Band 125

Dr.-Ing. Andreas Mehr

Hartfeinbearbeitung von Verzahnungen mit kristallinen diamantbeschichteten Werkzeugen beim Fertigungsverfahren Wälzstoßen

Band 126

Dr.-Ing. Martin Gutmann

Entwicklung einer methodischen Vorgehensweise zur Diagnose von hydraulischen Produktionsmaschinen

Band 127

Dr.-Ing. Gisela Lanza

Simulative Anlaufunterstützung auf Basis der Qualitätsfähigkeiten von Produktionsprozessen

Band 128

Dr.-Ing. Ulf Dambacher

Kugelgewindetrieb mit hohem Druckwinkel

Band 129

Dr.-Ing. Carsten Buchholz

Systematische Konzeption und Aufbau einer automatisierten Produktionszelle für pulverspritzgegossene Mikrobauteile

Band 130

Dr.-Ing. Heiner Lang

Trocken-Räumen mit hohen Schnittgeschwindigkeiten

Band 131

Dr.-Ing. Daniel Nesges

Prognose operationeller Verfügbarkeiten von Werkzeugmaschinen unter Berücksichtigung von Serviceleistungen

Im Shaker Verlag erschienene Bände:

Band 132

Dr.-Ing. Andreas Bechle

Beitrag zur prozesssicheren Bearbeitung beim Hochleistungsfertigungsverfahren Wälzschälen

Band 133

Dr.-Ing. Markus Herm

Konfiguration globaler Wertschöpfungsnetzwerke auf Basis von Business Capabilities

Band 134

Dr.-Ing. Hanno Tritschler

Werkzeug- und Zerspanprozessoptimierung beim Hartfräsen von Mikrostrukturen in Stahl

Band 135

Dr.-Ing. Christian Munzinger

**Adaptronische Strebe zur Steifigkeitssteigerung
von Werkzeugmaschinen**

Band 136

Dr.-Ing. Andreas Stepping

**Fabrikplanung im Umfeld von Wertschöpfungsnetzwerken und
ganzheitlichen Produktionssystemen**

Band 137

Dr.-Ing. Martin Dyck

**Beitrag zur Analyse thermische bedingter Werkstückdeformationen
in Trockenbearbeitungsprozessen**

Band 138

Dr.-Ing. Siegfried Schmalzried

**Dreidimensionales optisches Messsystem für eine effizientere
geometrische Maschinenbeurteilung**

Band 139

Dr.-Ing. Marc Wawerla

Risikomanagement von Garantieleistungen

Band 140

Dr.-Ing. Ivesa Buchholz

**Strategien zur Qualitätssicherung mikromechanischer Bauteile
mittels multisensorieller Koordinatenmesstechnik**

Band 141

Dr.-Ing. Jan Kotschenreuther

**Empirische Erweiterung von Modellen der Makrozerspanung
auf den Bereich der Mikrobearbeitung**

Band 142

Dr.-Ing. Andreas Knödel

Adaptronische hydrostatische Drucktascheneinheit

Band 143

Dr.-Ing. Gregor Stengel

**Fliegendes Abtrennen räumlich gekrümmter Strangpressprofile mittels
Industrierobotern**

Band 144

Dr.-Ing. Udo Weismann

Lebenszyklusorientiertes interorganisationelles Anlagencontrolling

Band 145

Dr.-Ing. Rüdiger Pabst

Mathematische Modellierung der Wärmestromdichte zur Simulation des thermischen Bauteilverhaltens bei der Trockenbearbeitung

Band 146

Dr.-Ing. Jan Wieser

Intelligente Instandhaltung zur Verfügbarkeitssteigerung von Werkzeugmaschinen

Band 147

Dr.-Ing. Sebastian Haupt

Effiziente und kostenoptimale Herstellung von Mikrostrukturen durch eine Verfahrenskombination von Bahnerosion und Laserablation

Band 148

Dr.-Ing. Matthias Schlipf

Statistische Prozessregelung von Fertigungs- und Messprozess zur Erreichung einer variabilitätsarmen Produktion mikromechanischer Bauteile

Band 149

Dr.-Ing. Jan Philipp Schmidt-Ewig

Methodische Erarbeitung und Umsetzung eines neuartigen Maschinenkonzeptes zur produktflexiblen Bearbeitung räumlich gekrümmter Strangpressprofile

Band 150

Dr.-Ing. Thomas Ender

Prognose von Personalbedarfen im Produktionsanlauf unter Berücksichtigung dynamischer Planungsgrößen

Band 151

Dr.-Ing. Kathrin Peter

Bewertung und Optimierung der Effektivität von Lean Methoden in der Kleinserienproduktion

Band 152

Dr.-Ing. Matthias Schopp

Sensorbasierte Zustandsdiagnose und -prognose von Kugelgewindetrieben

Band 153

Dr.-Ing. Martin Kipfmüller

Aufwandsoptimierte Simulation von Werkzeugmaschinen

Band 154

Dr.-Ing. Carsten Schmidt

Development of a database to consider multi wear mechanisms within chip forming simulation

Band 155

Dr.-Ing. Stephan Niggeschmidt

Ausfallgerechte Ersatzteilbereitstellung im Maschinen- und Anlagenbau mittels lastabhängiger Lebensdauerprognose

Band 156

Dr.-Ing. Jochen Conrad Peters

Bewertung des Einflusses von Formabweichungen in der Mikro-Koordinatenmesstechnik

Band 157

Dr.-Ing. Jörg Ude

Entscheidungsunterstützung für die Konfiguration globaler Wertschöpfungsnetzwerke

Band 158

Dr.-Ing. Stefan Weiler

Strategien zur wirtschaftlichen Gestaltung der globalen Beschaffung

Band 159

Dr.-Ing. Jan Rühl

Monetäre Flexibilitäts- und Risikobewertung

Band 160

Dr.-Ing. Daniel Ruch

Positions- und Konturerfassung räumlich gekrümmter Profile auf Basis bauteilimmanenter Markierungen

Band 161

Dr.-Ing. Manuel Tröndle

Flexible Zuführung von Mikrobauteilen mit piezoelektrischen Schwingförderern

Band 162

Dr.-Ing. Benjamin Viering

Mikroverzahnungsnormal

Band 163

Dr.-Ing. Chris Becke

Prozesskrafttrichtungsangepasste Frässtrategien zur schädigungsarmen Bohrungsbearbeitung an faserverstärkten Kunststoffen

Band 164

Dr.-Ing. Patrick Werner

Dynamische Optimierung und Unsicherheitsbewertung der lastabhängigen präventiven Instandhaltung von Maschinenkomponenten

Band 165

Dr.-Ing. Martin Weis

Kompensation systematischer Fehler bei Werkzeugmaschinen durch self-sensing Aktoren

Band 166

Dr.-Ing. Markus Schneider

Kompensation von Konturabweichungen bei gerundeten Strangpressprofilen durch robotergestützte Führungswerkzeuge

Band 167

Dr.-Ing. Ester M. R. Ruprecht

Prozesskette zur Herstellung schichtbasierter Systeme mit integrierten Kavitäten

Band 168

Dr.-Ing. Alexander Broos

Simulationsgestützte Ermittlung der Komponentenbelastung für die Lebensdauerprognose an Werkzeugmaschinen

Band 169

Dr.-Ing. Frederik Zanger

Segmentspanbildung, Werkzeugverschleiß, Randschichtzustand und Bauteileigenschaften: Numerische Analysen zur Optimierung des Zerspanungsprozesses am Beispiel von Ti-6Al-4V

Band 170

Dr.-Ing. Benjamin Behmann

Servicefähigkeit

Band 171

Dr.-Ing. Annabel Gabriele Jondral

Simulationsgestützte Optimierung und Wirtschaftlichkeitsbewertung des Lean-Methodeneinsatzes

Band 172

Dr.-Ing. Christoph Ruhs

Automatisierte Prozessabfolge zur qualitätssicheren Herstellung von Kavitäten mittels Mikrobahnerosion

Band 173

Dr.-Ing. Steven Peters

Markoffsche Entscheidungsprozesse zur Kapazitäts- und Investitionsplanung von Produktionssystemen

Band 174

Dr.-Ing. Christoph Kühlewein

Untersuchung und Optimierung des Wälzschälverfahrens mit Hilfe von 3D-FEM-Simulation – 3D-FEM Kinematik- und Spanbildungssimulation

Band 175

Dr.-Ing. Adam-Mwanga Dieckmann

Auslegung und Fertigungsprozessgestaltung sintergefügter Verbindungen für µMIM-Bauteile

Band 176

Dr.-Ing. Heiko Hennrich

Aufbau eines kombinierten belastungs- und zustandsorientierten Diagnose- und Prognosesystems für Kugelgewindetriebe

Band 177

Dr.-Ing. Stefan Herder

Piezoelektrischer Self-Sensing-Aktor zur Vorspannungsregelung in adaptronischen Kugelgewindetrieben

Band 178

Dr.-Ing. Alexander Ochs

Ultraschall-Strömungsgreifer für die Handhabung textiler Halbzeuge bei der automatisierten Fertigung von RTM-Bauteilen

Band 179

Dr.-Ing. Jürgen Michna

Numerische und experimentelle Untersuchung zerspanungsbedingter Gefügeumwandlungen und Modellierung des thermo-mechanischen Lastkollektivs beim Bohren von 42CrMo4

Band 180

Dr.-Ing. Jörg Elser

Vorrichtungsfreie räumliche Anordnung von Fügepartnern auf Basis von Bauteilmarkierungen

Band 181

Dr.-Ing. Katharina Klimscha

Einfluss des Fügespalts auf die erreichbare Verbindungsqualität beim Sinterfügen

Band 182

Dr.-Ing. Patricia Weber

Steigerung der Prozesswiederholbarkeit mittels Analyse akustischer Emissionen bei der Mikrolaserablation mit UV-Pikosekundenlasern

Band 183

Dr.-Ing. Jochen Schädel

Automatisiertes Fügen von Tragprofilen mittels Faserwickeln

Band 184

Dr.-Ing. Martin Krauß

Aufwandsoptimierte Simulation von Produktionsanlagen durch Vergrößerung der Geltungsbereiche von Teilmodellen

Band 185

Dr.-Ing. Raphael Moser

Strategische Planung globaler Produktionsnetzwerke

Bestimmung von Wandlungsbedarf und Wandlungszeitpunkt mittels multikriterieller Optimierung

Band 186

Dr.-Ing. Martin Otter

Methode zur Kompensation fertigungsbedingter Gestaltabweichungen für die Montage von Aluminium Space-Frame-Strukturen

Band 187

Dr.-Ing. Urs Leberle

Produktive und flexible Gleitförderung kleiner Bauteile auf phasenflexiblen Schwingförderern mit piezoelektrischen 2D-Antriebselementen

Band 188

Dr.-Ing. Johannes Book

Modellierung und Bewertung von Qualitätsmanagementstrategien in globalen Wertschöpfungsnetzwerken

Band 189

Dr.-Ing. Florian Ambrosy

Optimierung von Zerspanungsprozessen zur prozesssicheren Fertigung nanokristalliner Randschichten am Beispiel von 42CrMo4

Band 190

Dr.-Ing. Adrian Kölmel

Integrierte Messtechnik für Prozessketten unreifer Technologien am Beispiel der Batterieproduktion für Elektrofahrzeuge

Band 191

Dr.-Ing. Henning Wagner

Featurebasierte Technologieplanung zum Preforming von textilen Halbzeugen

Band 192

Dr.-Ing. Johannes Gebhardt

**Strukturoptimierung von in FVK eingebetteten metallischen
Lasteinleitungselementen**

Band 193

Dr.-Ing. Jörg Bauer

**Hochintegriertes hydraulisches Vorschubsystem für die Bearbeitung kleiner
Werkstücke mit hohen Fertigungsanforderungen**

Band 194

Dr.-Ing. Nicole Stricker

Robustheit verketteter Produktionssysteme

Robustheitsevaluation und Selektion des Kennzahlensystems der Robustheit

Band 195

Dr.-Ing. Anna Sauer

**Konfiguration von Montagelinien unreifer Produkttechnologien am Beispiel
der Batteriemontage für Elektrofahrzeuge**

Band 196

Dr.-Ing. Florian Sell-Le Blanc

Prozessmodell für das Linearwickeln unrunder Zahnspulen

Ein Beitrag zur orthozyklischen Spulenwickeltechnik

Band 197

Dr.-Ing. Frederic Förster

**Geregeltes Handhabungssystem zum zuverlässigen und energieeffizienten
Handling textiler Kohlenstofffaserzuschnitte**

Band 198

Dr.-Ing. Nikolay Boev

**Numerische Beschreibung von Wechselwirkungen zwischen Zerspanprozess
und Maschine am Beispiel Räumen**

Band 199

Dr.-Ing. Sebastian Greinacher

**Simulationsgestützte Mehrzieloptimierung schlanker und ressourcen-
effizienter Produktionssysteme**

Band 200

Dr.-Ing. Benjamin Häfner

Lebensdauerprognose in Abhängigkeit der Fertigungsabweichungen bei Mikroverzahnungen

Band 201

Dr.-Ing. Stefan Klotz

Dynamische Parameteranpassung bei der Bohrungsherstellung in faserverstärkten Kunststoffen unter zusätzlicher Berücksichtigung der Einspannsituation

Band 202

Dr.-Ing. Johannes Stoll

Bewertung konkurrierender Fertigungsfolgen mittels Kostensimulation und stochastischer Mehrzieloptimierung

Anwendung am Beispiel der Blechpaketfertigung für automobiler Elektromotoren

Band 203

Dr.-Ing. Simon-Frederik Koch

Fügen von Metall-Faserverbund-Hybridwellen im Schleuderverfahren

ein Beitrag zur fertigungsgerechten intrinsischen Hybridisierung

Band 204

Dr.-Ing. Julius Ficht

Numerische Untersuchung der Eigenspannungsentwicklung für sequenzielle Zerspanungsprozesse

Band 205

Dr.-Ing. Manuel Baumeister

Automatisierte Fertigung von Einzelblattstapeln in der Lithium-Ionen-Zellproduktion

Band 206

Dr.-Ing. Daniel Bertsch

Optimierung der Werkzeug- und Prozessauslegung für das Wälzschälen von Innenverzahnungen

Band 207

Dr.-Ing. Kyle James Kippenbrock

Deconvolution of Industrial Measurement and Manufacturing Processes for Improved Process Capability Assessments

Band 208

Dr.-Ing. Farboud Bejnoud

Experimentelle Prozesskettenbetrachtung für Räumbauteile am Beispiel einer einsatzgehärteten PKW-Schiebemuffe

Band 209

Dr.-Ing. Steffen Dosch

Herstellungsübergreifende Informationsübertragung zur effizienten Produktion von Werkzeugmaschinen am Beispiel von Kugelgewindetrieben

Band 210

Dr.-Ing. Emanuel Moser

Migrationsplanung globaler Produktionsnetzwerke

Bestimmung robuster Migrationspfade und risiko-effizienter Wandlungsbefähiger

Band 211

Dr.-Ing. Jan Hochdörffer

Integrierte Produktallokationsstrategie und Konfigurationssequenz in globalen Produktionsnetzwerken

Band 212

Dr.-Ing. Tobias Arndt

Bewertung und Steigerung der Prozessqualität in globalen Produktionsnetzwerken

Band 213

Dr.-Ing. Manuel Peter

Unwuchtminimale Montage von Permanentmagnetrotoren durch modellbasierte Online-Optimierung

Band 214

Dr.-Ing. Robin Kopf

Kostenorientierte Planung von Fertigungsfolgen additiver Technologien

Band 215

Dr.-Ing. Harald Meier

**Einfluss des Räumens auf den Bauteilzustand in der Prozesskette
Weichbearbeitung – Wärmebehandlung – Hartbearbeitung**

Band 216

Dr.-Ing. Daniel Brabandt

**Qualitätssicherung von textilen Kohlenstofffaser-Preforms mittels
optischer Messtechnik**

Band 217

Dr.-Ing. Alexandra Schabunow

**Einstellung von Aufnahmeparametern mittels projektionsbasierter Qualitäts-
kenngrößen in der industriellen Röntgen-Computertomographie**

Band 218

Dr.-Ing. Jens Bürgin

Robuste Auftragsplanung in Produktionsnetzwerken
Mittelfristige Planung der variantenreichen Serienproduktion unter Unsicherheit der Kundenauftragskonfigurationen

Band 219

Dr.-Ing. Michael Gerstenmeyer

**Entwicklung und Analyse eines mechanischen Oberflächenbehandlungs-
verfahrens unter Verwendung des Zerspanungswerkzeuges**

Band 220

Dr.-Ing. Jacques Burtscher

**Erhöhung der Bearbeitungsstabilität von Werkzeugmaschinen durch
semi-passive masseneinstellbare Dämpfungssysteme**

Band 221

Dr.-Ing. Dietrich Berger

**Qualitätssicherung von textilen Kohlenstofffaser-Preforms mittels prozess-
integrierter Wirbelstromsensor-Arrays**

Band 222

Dr.-Ing. Fabian Johannes Ballier

Systematic gripper arrangement for a handling device in lightweight production processes

Band 223

Dr.-Ing. Marielouise Schäferling, geb. Zaiß

Development of a Data Fusion-Based Multi-Sensor System for Hybrid Sheet Molding Compound

Band 224

Dr.-Ing. Quirin Spiller

Additive Herstellung von Metallbauteilen mit dem ARBURG Kunststoff-Freiformen

Band 225

Dr.-Ing. Andreas Spohrer

Steigerung der Ressourceneffizienz und Verfügbarkeit von Kugelgewindetrieben durch adaptive Schmierung

Band 226

Dr.-Ing. Johannes Fisel

Veränderungsfähigkeit getakteter Fließmontagesysteme
Planung der Fließbandabstimmung am Beispiel der Automobilmontage

Band 227

Dr.-Ing. Patrick Bollig

Numerische Entwicklung von Strategien zur Kompensation thermisch bedingter Verzüge beim Bohren von 42CrMo4

Band 228

Dr.-Ing. Ramona Pfeiffer, geb. Singer

Untersuchung der prozessbestimmenden Größen für die anforderungsgerechte Gestaltung von Pouchzellen-Verpackungen

Band 229

Dr.-Ing. Florian Baumann

Additive Fertigung von endlosfaserverstärkten Kunststoffen mit dem ARBURG Kunststoff-Freiform Verfahren

Band 230

Dr.-Ing. Tom Stähr

Methodik zur Planung und Konfigurationsauswahl skalierbarer Montagesysteme – Ein Beitrag zur skalierbaren Automatisierung

Band 231

Dr.-Ing. Jan Schwennen

Einbringung und Gestaltung von Lasteinleitungsstrukturen für im RTM-Verfahren hergestellte FVK-Sandwichbauteile

Band 232

Dr.-Ing. Sven Coutandin

Prozessstrategien für das automatisierte Preforming von bebinderten textilen Halbzeugen mit einem segmentierten Werkzeugsystem

Band 233

Dr.-Ing. Christoph Liebrecht

Entscheidungsunterstützung für den Industrie 4.0-Methodeneinsatz
Strukturierung, Bewertung und Ableitung von Implementierungsreihenfolgen

Band 234

Dr.-Ing. Stefan Treber

Transparenzsteigerung in Produktionsnetzwerken
Verbesserung des Störungsmanagements durch verstärkten Informationsaustausch

Band 235

Dr.-Ing. Marius Dackweiler

Modellierung des Fügewickelprozesses zur Herstellung von leichten Fachwerkstrukturen

Band 236

Dr.-Ing. Fabio Echsler Minguillon

Prädiktiv-reaktives Scheduling zur Steigerung der Robustheit in der Matrix-Produktion

Band 237

Dr.-Ing. Sebastian Haag

Entwicklung eines Verfahrensablaufes zur Herstellung von Batteriezellstapeln mit großformatigem, rechteckigem Stapelformat und kontinuierlichen Materialbahnen

Band 238

Dr.-Ing. Raphael Wagner

Strategien zur funktionsorientierten Qualitätsregelung in der Serienproduktion

Band 239

Dr.-Ing. Christopher Ehrmann

Ausfallfrüherkennung von Ritzel-Zahnstangen- Trieben mittels Acoustic Emission

Band 240

Dr.-Ing. Janna Hofmann

Prozessmodellierung des Fünf-Achs-Nadelwickelns zur Implementierung einer trajektoriebasierten Drahtzugkraftregelung

Band 241

Dr.-Ing. Andreas Kuhnle

Adaptive Order Dispatching based on Reinforcement Learning
Application in a Complex Job Shop in the Semiconductor Industry

Band 242

Dr.-Ing. Andreas Greiber

Fertigung optimierter technischer Oberflächen durch eine Verfahrenskombination aus Fliehkraft-Tauchgleitschleifen und Laserablation
Prozesseinflüsse und Prozessauslegung

Band 243

Dr.-Ing. Jan Niclas Eschner

Entwicklung einer akustischen Prozessüberwachung zur Porenbestimmung im Laserstrahlschmelzen

Band 244

Dr.-Ing. Sven Roth

Schädigungsfreie Anbindung von hybriden FVK/Metall-Bauteilen an metallische Tragstrukturen durch Widerstandspunktschweißen

Band 245

Dr.-Ing. Sina Kathrin Peukert

Robustheitssteigerung in Produktionsnetzwerken mithilfe eines integrierten Störungsmanagements

Band 246

Dr.-Ing. Alexander Jacob

Hochiterative Technologieplanung

Rekursive Optimierung produkt- und fertigungsbezogener Freiheitsgrade am Beispiel der hybrid-additiven Fertigung

Band 247

Dr.-Ing. Patrick Moll

Ressourceneffiziente Herstellung von Langfaser-Preforms im Faserblasverfahren

Band 248

Dr.-Ing. Eric Thore Segebade

Erhöhung der Verschleißbeständigkeit von Bauteilen aus Ti-6Al-4V mittels simulationsgestützter Zerspanung und mechanischer Mikrotexturierung

Band 249

Dr.-Ing. Shun Yang

Regionalized implementation strategy of smart automation within assembly systems in China

Band 250

Dr.-Ing. Constantin Carl Hofmann

Vorausschauende und reaktive Mehrzieloptimierung für die Produktionssteuerung einer Matrixproduktion

Band 251

Dr.-Ing. Paul Ruhland

Prozesskette zur Herstellung von hybriden Faser-Metall-Preforms

Modellbildung und Optimierung des Binderauftrags und der Drapierung für stabförmige Bauteile

Band 252

Dr.-Ing. Leonard Schild

Erzeugung und Verwendung von Anwendungswissen in der industriellen Computertomographie

Band 253

Dr.-Ing. Benedikt Klee

Analyse von Phaseninformationen in Videodaten zur Identifikation von Schwingungen in Werkzeugmaschinen

Band 254

Dr.-Ing. Bruno Vargas

Wälzschälen mit kleinen Achskreuzwinkeln

Prozessgrenzen und Umsetzbarkeit

Band 255

Dr.-Ing. Lucas Bretz

Function-oriented in-line quality assurance of hybrid sheet molding compound

Band 256

Dr.-Ing. Bastian Rothaupt

Dämpfung von Bauteilschwingungen durch einstellbare Werkstückdirektspannung mit Hydrodehnspanntechnik

Band 257

Dr.-Ing. Daniel Kupzik

Robotic Swing Folding of three-dimensional UD-tape-based Reinforcement Structures

Band 258

Dr.-Ing. Bastian Verhaelen

(De-)Zentralisierung von Entscheidungen in globalen Produktionsnetzwerken
Strategie- und komplexitätsorientierte Gestaltung der Entscheidungsautonomie

Band 259

Dr.-Ing. Hannes Wilhelm Weinmann

Integration des Vereinzelungs- und Stapelbildungsprozesses in ein flexibel und kontinuierlich arbeitendes Anlagenmodul für die Li-Ionen Batteriezellfertigung

Band 260

Dr.-Ing. Florian Stamer

Dynamische Lieferzeit-Preisgestaltung in variantenreicher Produktion

Ein adaptiver Ansatz mithilfe von Reinforcement Learning

Band 261

Dr.-Ing. Patrick Neuenfeldt

Modellbildung des Tauchgleitschleifens zur Abtrag- und Topografievorhersage an komplexen Geometrien

Band 262

Dr.-Ing. Boris Matuschka

Energieeffizienz in Prozessketten: Analyse und Optimierung von Energieflüssen bei der Herstellung eines PKW-Getriebebauteils aus 16MnCr5

Band 263

Dr.-Ing. Tobias Schlagenhauf

Bildbasierte Quantifizierung und Prognose des Verschleißes an Kugelgewindetribspindeln

Ein Beitrag zur Zustandsüberwachung von Kugelgewindetrieben mittels Methoden des maschinellen Lernens

Band 264

Dr.-Ing. Benedict Stampfer

Entwicklung eines multimodalen Prozessmodells zur Oberflächenkonditionierung beim Außenlängsdrehen von 42CrMo4

Band 265

Dr.-Ing. Carmen Maria Krahe

KI-gestützte produktionsgerechte Produktentwicklung

Automatisierte Wissensextraktion aus vorhandenen Produktgenerationen

Band 266

Dr.-Ing. Markus Netzer

Intelligente Anomalieerkennung für hochflexible Produktionsmaschinen

Prozessüberwachung in der Brownfield Produktion

Band 267

Dr.-Ing. Simon Raphael Merz

Analyse der Kinematik und Kinetik von Planetenwälzgewindetrieben

Band 268

Dr.-Ing. Rainer Maria Silbernagel

Funktionsorientierte Qualitätsregelung in Produktionsnetzwerken

Qualitätsmanagement in der Produktion hochpräziser Produkte durch netzwerkweite Datenintegration

Band 269

Dr.-Ing. Jonas Nieschlag

Gestaltung und Prozessanalyse für im Schleuderverfahren hergestellte FKV-Metall-Hohlstrukturen

Band 270

Dr.-Ing. Lukas Matthias Weiser

In-Process Porositätserkennung für den PBF-LB/M-Prozess

Band 271

Dr.-Ing. Leonard Vincent Overbeck

Digital Twins of production systems

Automated validation and update of material flow simulation models with real data

Band 272

Dr.-Ing. Felix Klenk

Transparenzsteigerung in der Rückführungslogistik zur Verbesserung der Materialbedarfsplanung für das Remanufacturing

Band 273

Dr.-Ing. Benjamin Bold

Kompensation der Wrinkle-Bildung beim Kalandrieren von Lithium-Ionen-Kathoden

Vom Prozessverständnis des Kalandrierens bis zur Prozessoptimierung mittels Anti-Wrinkle-Modul

Band 274

Dr.-Ing. Daniel Gauder

Adaptive in-line Qualitätsregelung in der Mikro-Verzahnungsfertigung

Band 275

Dr.-Ing. Fabian Sasse

Ontologie-basierte Entscheidungsunterstützung für die Auswahl von Messsystemen in unreifen Produktionsprozessen

Band 276

Dr.-Ing. Jonas Hillenbrand

Unsupervised Condition-Monitoring für Kugelgewindetriebe mittels Acoustic Emission

Band 277

Dr.-Ing. Manuela Neuenfeldt

Untersuchung des Einflusses der PBF-LB-Stellgrößen auf die zerspanende Bearbeitung additiv gefertigter Stahlbauteile

Band 278

Dr.-Ing. Marvin Carl May

Intelligent production control for time-constrained complex job shops

Band 279

Dr.-Ing. Philipp Gönzheimer

Automatisierte Bereitstellung von Maschinensteuerungsdaten in Brownfield-Produktionssystemen

Ein Beitrag zur Digitalisierung von Bestandsanlagen am Beispiel von Werkzeugmaschinen

Band 280

Dr.-Ing. Markus Schäfer

Kollisionsvermeidung für Endeffektoren mit integriertem LiDAR-System in der MRK

Ein Beitrag zur Mensch-Roboter-Kollaboration

Band 281

Dr.-Ing. Oliver Brützel

Decision Support System for the Optimisation of Global Production Networks

Development of a Digital Twin for Product Allocation and Robust Line Configuration

Band 282

Dr.-Ing. Gregor Graf

Qualifizierung der Legierung FeNiCoMoVTiAl im LPBF-Prozess unter Verwendung einer Doppellaser-Belichtungsstrategie

Band 283

Dr.-Ing. Maximilian Torsten Halwas

Kompaktwickelprozess zur Erhöhung der Performance von Statoren elektrischer Traktionsantriebe

Band 284

Dr.-Ing. Magnus Kandler

Menschzentriertes Implementierungsvorgehen für das Digitale Shopfloor Management - Förderung der Selbstorganisation unter Berücksichtigung der Mitarbeiterakzeptanz

Band 285

Dr.-Ing. Michael Baranowski

Additive Herstellung endlosfaserverstärkter Kunststoffbauteile mit dem Laser-Sinterprozess

Maschinentechnik, Prozessentwicklung und -modellierung

Band 286

Dr.-Ing. Tobias Storz

Flexibel automatisierte Assemblierung von Li-Ionen-Pouchzellen

Agile Anlagentechnik für die Prozesskette Stapelbildung, Kontaktierung und Heißsiegeln

Band 287

Dr.-Ing. Nikolas Sven Matkovic

Additive Individualization of Continuous-Discontinuous Reinforced Thermoplastics

Band 288

Dr.-Ing. Marco Wurster

Planung und Steuerung agiler hybrider Demontagesysteme im Remanufacturing

Band 289

Dr.-Ing. Felix Johannes Wirth

Prozessgeregelte Formgebung von Hairpin-Steckspulen für elektrische Traktionsmotoren

Band 290

Dr.-Ing. Patrizia Konstanze Gartner

Konzept eines Selbstheilungsmechanismus für Polymerelektrolytmembranen

Optimierung der Lebensdauer und der Effizienz von Brennstoffzellen

