Prinzipien der Biomineralisation

Morphosynthetische Verfahren zur Kristallisation von Calciumcarbonat
unter spezieller Betrachtung von amorphen Festkörperphasen

Dissertation

zur Erlangung des naturwissenschaftlichen Doktorgrades

Universität Ulm
Fachbereich für Chemie

vorgelegt von
Marc Harms
geb. in Aurich

Ulm, 2006

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Dirk Volkmer in der Zeit von September 2001 bis Januar 2006 an der Universität Bielefeld und an der Universität Ulm angefertigt.

Hiermit möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dirk Volkmer sehr herzlich für die Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Arbeitsgruppe anfertigen zu können, für die wertvollen Anregungen und die jederzeit gewährte Unterstützung bedanken.

Mein Dank gilt weiterhin meinen Laborkollegen Dr. Björn Bredenkötter, Stefano Tugulu, Arne Roth, Dr. Yonghui Wang und Dr. Marc Fricke für die hervorragende Zusammenarbeit und das stets herzliche Arbeitsklima.

Weiterhin möchte ich mich bei Dr. Sabine Hild für die AFM-Analysen, Herrn PD Dr. Andreas Ziegler für die SEM-Aufnahmen und Herrn Alexander Minkow für die Hilfe bei den EBSD-Messungen bedanken. Herrn Prof. Dr. Carl Krill danke ich für die Möglichkeit, XRD-Messungen durchführen zu können.

Insbesondere möchte ich mich bei meiner Familie und all meinen Freunden für ihre Unterstützung, die Motivation und das mir entgegengebrachte Verständnis während dieser Zeit bedanken.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung **17**

1.1. Motivation und Ziele dieser Arbeit 17
1.2. Biomineralisation 18
1.3. Zusammensetzung von Biomineralien 20
1.3.1. Calciumcarbonat 24
1.3.2. Amorphes Calciumcarbonat (ACC) 25
1.3.3. Stabilität und Struktur von biogenem ACC 28
1.3.4. ACC als Vorläuferphase für Calcit oder Aragonit . . 33
1.3.5. Calcit, Aragonit und Vaterit 34
1.3.6. Organische Makromoleküle 37
1.3.7. Einfluss von Magnesium auf die Kristallisation von Calciumcarbonat 40
1.4. Das Nukleationsmodell in der Biomineralisation 41
1.5. Methoden zur Calciumcarbonatkristallisation 48
1.5.1. Kitano-Methode 48
1.5.2. Diffusionsmethode 48
1.5.3. Durchflussmethode 49
1.5.4. Kristallisation unter Langmuir-Monoschichten 50

2. Materialien und Methoden **53**

2.1. Experimenteller Aufbau der Durchflussanordnung 53

2.2. Allgemeine Vorschrift zur Kristallisation von Calciumcarbonat in der Durchflusszelle 54
2.2.1. Kristallisation von Calciumcarbonat in Gegenwart von Additiven 56
2.2.2. Kristallisation von Calciumcarbonat in Gegenwart von Magnesium-Ionen 57
2.2.3. Darstellung von perlmuttartig strukturiertem Calcit . 57
2.2.4. Synthese von Calciumcarbonat-Ultrastrukturen . . . 59
2.3. Verwendete Messverfahren 60
2.3.1. Einführung in die Röntgendiffraktometrie 60
2.3.2. Kraftmikroskopie 62
2.3.3. Optische Methoden, Polscope-Mikroskopie 66
2.3.4. IR-Spektroskopie 69
2.4. Texturuntersuchungen 72
2.4.1. Textur und Anisotropie kristalliner Stoffe 73
2.4.2. Kristall- und Probensysmmetrie 75
2.4.3. Orientierungsdarstellung durch Eulerwinkel 76
2.4.4. Die Orientierungsdichtefunktion (ODF) 77
2.4.5. Polfiguren 78
2.5. Electron backscatter diffraction, EBSD 80

3. Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen 85
3.1. Kristallisation von Calciumcarbonat in Gegenwart von Magnesium-Ionen 85
3.2. Kristallisation unter dem Einfluss von organischen Makromolekülen 88
3.3. Morphosynthese von perlmuttartig strukturiertem Calcit . . 95
3.4. Darstellung von Calciumcarbonat-Überstrukturen 112
3.4.1. Abscheidung von Nylon(6.6)-Dünnfilmen 112
3.4.2. Bildung des *crystallization-inducing-thin film* (CIT) . 116

3.4.3. Aufwuchs von Calcit auf dem CIT 120

4. Diskussion der Ergebnisse 125

4.1. Experimentelle Durchflussanordnung 125

4.2. Stabilisierung einer amorphen Calciumcarbonatphase 128

4.3. Die Bedeutung des CIT 131

5. Zusammenfassung und Ausblick 133

A. Spezifikation der verwendeten technischen Geräte 139

B. Zusatzinfomationen zur Darstellung von Calcit-Überstrukturen 141

C. Liste der verwendeten Abkürzungen 143

D. Liste der verwendeten Chemikalien 145

Tabellenverzeichnis

1.1. Übersicht zu den häufigsten Biomineralien 21
1.2. Auflistung bekannter Vorkommen von amorphem Calciumcarbonat in Organismen 26
1.3. Übersicht zur Koordinationssphäre von Ca-Ionen in amorphem Calciumcarbonat 33

2.1. Übersicht der verwendeten Additive zur Kristallisation von Calciumcarbonat in der Durchflusszelle 56
2.2. IR-Bandenfrequenzen zum Calciumcarbonat in amorpher und kristalliner Umgebung 71

3.1. Übersicht zu den {10.4}-Calcitpeaks und den daraus abgeleiteten Mg-Gehalten. 88

Abbildungsverzeichnis

1.1. SEM-Aufnahmen von natürlich vorkommenden Biomineralien 23
1.2. Darstellung einer Kollagen-Tripel-Helix-Struktur 25
1.3. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von ACC-Strukturen in biologischen Systemen 27
1.4. IR-Spektren verschiedener Calciumcarbonatpolymorphe . . . 30
1.5. Ramanspektren verschiedener Calciumcarbonatpolymorphe . 31
1.6. Kristallgitter des Calcits 35
1.7. Kristallgitter des Aragonits 37
1.8. Kristallgitter des Vaterits 38
1.9. Schematische Darstellung des Nukleationsbereichs eines sauren Glykoproteins 43
1.10. Schematisches Diagramm zur Darstellung der Wechselwirkungen zwischen der organischen Matrix und Kristall 44
1.11. Abbildungen von verschiedenen Bereichen der Perlmuttschicht einer Muschelschale 45
1.12. Schematische Darstellung zur relativen Orientierung von *self-assembling monolayers* (SAMs) und aufwachsendem Kristall 46
1.13. Strukturformeln von Calixaren- und Resorcaren-Derivaten . 52

2.1. Schematischer Aufbau der Durchflusszellenanordnung 54
2.2. Abbildung der Perfusionszelle 55

2.3. Schematische Darstellung der Beugung und Reflexion eines Lichtstrahls 62
2.4. Schematische Darstellung zum Aufbau eines Kraftmikroskops 63
2.5. Schematische Darstellung zur Oberflächenrauhigkeit eines Substrates 63
2.6. Darstellung zum Durchtritt eines Lichtstrahls durch einen Kristall 67
2.7. Darstellung der verschiedenen Koordinatensysteme zur Orientierungsbeschreibung 74
2.8. Darstellung von verschieden orientierten Kristallen 75
2.9. Orientierungsdarstellung durch sphärische Winkel 76
2.10. Schematische Darstellung zur quantitativen Beschreibung einer kristallinen Phase 77
2.11. Darstellung der vollständigen (112) Polfigur einer hexagonalen GaN-Schicht 79
2.12. 2-dimensionale Darstellungen von Beugungserscheinungen an Netzebenen 81
2.13. Schematische Darstellung der Bildung von Kikuchi-Linien . . 82
2.14. EBSD-Diagramm eines Nickelsubstrates 82
2.15. EBSD-Karte einer Olivinprobe 83

3.1. SEM-Aufnahmen von magnesiumhaltigem Calcit mit unterschiedlichen Ca/Mg-Verhältnissen 86
3.2. XRD-Diagramme von magnesiumhaltigem Calcit 89
3.3. SEM-Aufnahmen von Calciumcarbonat, gewachsen unter dem Einfluss von Poly(acrylsäure) (PAA) 90
3.4. XRD-Diagramm von Calciumcarbonat, gewachsen in Gegenwart von PAA 91
3.5. SEM-Aufnahmen von Calciumcarbonat, gewachsen unter dem Einfluss von Poly(asparaginsäure) (pAsp) 92

3.6. SEM-Aufnahmen von Calciumcarbonat gewachsen unter dem Einfluss von pAsp unter Diffusionsbedingungen 93
3.7. Optische Aufnahmen von Calciumcarbonat-Dünnfilmen . . . 94
3.8. Morphosynthetischer Ansatz zur Darstellung von perlmuttartig strukturiertem Calcit 96
3.9. Optische und elektronenmikroskopische Aufnahmen eines amorphen Calciumcarbonat-Vorläuferfilms 98
3.10. XRD-Diagramme und IR-Spektren von Calciumcarbonat-Dünnfilmen 99
3.11. Optische und elektronenmikroskopische Aufnahmen eines polykristallinen Calciumcarbonat-Dünnfilms 100
3.12. AFM-Abbildung und Höhenprofil eines polykristallinen Calciumcarbonat-Dünnfilms 101
3.13. XRD-Diagramme eines polykristallinen Dünnfilms unter streifendem Einfall, sowie Darstellung der {10.4}-Polfigur 102
3.14. Größenverteilung von kristallinen Domänen des polykristallinen Calcitfilms 103
3.15. Orientierungskarte von kristallinen Domänen des polykristallinen Calcitfilms 104
3.16. Polmikroskopische Aufnahmen eines Calciumcarbonat-Dünnfilms 105
3.17. Abbildungen von Regionen eines polykristallinen Calciumcarbonat-Dünnfilms vor und nach Aufwuchsexperimenten 106
3.18. SEM-Aufnahmen von perlmuttartig strukturiertem Calcit . . 107
3.19. Kristallpackung der Nylon(6.6)-Moleküle 113
3.20. AFM-Abbildungen von Nylon(6.6)-Monoschichten 114
3.21. AFM-Abbildungen und Höhenprofile von Nylon(6.6)-Monoschichten 115

3.22. AFM-Abbildungen und Höhenprofile eines CIT-Bereichs auf einer Nylon(6.6)-Monoschicht 117
3.23. SEM-Aufnahmen von orientiertem Kristallwachstum auf dem CIT 119
3.24. AFM-Abbildungen und Phasenbilder von CIT-Bereichen . . 121
3.25. AFM-Abbildungen von Calcitaggregaten 122
3.26. SEM-Abbildungen von Calcit-Ultrastrukturen 124

5.1. Optische Aufnahmen von strukturierten Calcit-Gittern . . . 136

B.1. Ramanbilder von Calcit-Ultrastrukturen 141
B.2. SEM-Aufnahme von ACC-Strukturen 142

1. Einleitung

1.1. Motivation und Ziele dieser Arbeit

Die Fähigkeit von Organismen, anorganische Mineralien zu synthetisieren und aus diesen einzigartige Strukturen aufzubauen, ist bis heute durch Labormethoden nicht erreichbar. Das Endoskelett des Menschen oder auch die sehr viel diffizileren Exoskelette von Kalkalgen (Coccolithophoridae) und Radiolarien sind Beispiele, die verdeutlichen, mit welcher Präzision teils sehr einfache Organismen in der Lage sind, diesen Materialien Struktur und Form zu geben.
Bisherige Ansätze haben Mechanismen aufgeklärt und Modelle hervorgebracht, die einige der in der Biomineralisation auftretenden Phänomene zu erklären versuchen. Doch bei genauerer Betrachtung der biologischen Materialien offenbaren sich stets unvermutete Zusammenhänge. Die exakte Dokumentation und Beschreibung von Struktur und Form bis auf die Nanometerskala ist eine Grundvoraussetzung für das Verständnis der Biomineralisation.
Gelänge es die Mechanismen aufzuklären, die in biologischen Systemen wirken, so könnte man die daraus resultierenden Erkenntnisse auf artifizielle Systeme übertragen. Im Zuge der Entwicklung neuartiger Materialien hat es sich bewährt, Strukturprinzipien von der Natur zu übernehmen (Bionik). So könnte ein tieferes Verständnis der Biomineralisation des Calciumphosphats dazu führen, dass *echte* Knochen- und Zahnersatzmaterialien

entwickelt werden, die ihrem natürlichen Vorbild bis in das kleinste Detail entsprechen. Kontrolliertes Wachstum von Calciumcarbonat (*crystal engineering*) bringt möglicherweise optische Schaltelemente hervor, die in modernen Lichtleitern Verwendung finden könnten.
Das Calciumcarbonatsystem eignet sich hervorragend, um grundlegende Mechanismen der Biomineralisation aufzudecken, denn im Gegensatz zu anderen Mineralisationssystemen (Calciumphosphat), hat man es in diesem Fall nur mit drei wasserfreien Polymorphen (Calcit, Aragonit, Vaterit) zu tun. In diesem Zusammenhang wird in dieser Arbeit ein neuartiger, experimenteller Ansatz eingeführt. Im Gegensatz zu anderen Methoden, biomimetische Kristallisation durchzuführen, wird hier unter *non-equilibrium*-Bedingungen gearbeitet, was zur Folge hat, dass wichtige Parameter, wie Konzentration, pH-Wert und Temperatur, während des Experiments konstant gehalten werden können. Dies sollte eine bessere Kontrolle über den Kristallisationsvorgang ermöglichen. Wie in nachfolgenden Kapiteln gezeigt wird, hat dies gravierende Auswirkungen auf das Kristallisationsverhalten des Calciumcarbonatsystems.

1.2. Biomineralisation

Auf der Suche nach neuen Materialien sind in den letzten Jahrzehnten zunehmend biologische Systeme in den Mittelpunkt der naturwissenschaftlichen Forschung gerückt. Eine Vielzahl von Organismen ist in der Lage anorganisches Material aufzubauen, das sehr ungewöhnliche mechanische Eigenschaften aufweist. Insbesondere sind die Eigenschaften derartiger Materialien bemerkenswert, wenn man berücksichtigt, dass diese unter Standardbedingungen (Druck, Temperatur) gebildet werden [1]. Viele Studien haben sich seitdem mit der Biomineralisation von Organismen beschäftigt

und es wurden einige Strukturelemente und Bildungsmechanismen aufgedeckt. Biomineralien sind Kompositmineralien und bestehen hauptsächlich aus anorganischem Mineral und einem kleinen Anteil organischen Materials. Die organischen Bestandteile machen im Allgemeinen nur wenige Gewichtsprozente aus. Der Kernpunkt der Forschung auf diesem Gebiet beschäftigt sich mit der Wechselwirkung dieser beiden Komponenten. Die Frage, wie organisches Material und ionischer Festkörper zusammenspielen und auf diese Art und Weise höchst komplexe Strukturen erzeugen, ist bis heute nicht geklärt. Bisherige Untersuchungen haben gezeigt, dass lösliche, organische Makromoleküle und oberflächenfunktionalisierte Substrate einen starken Einfluss auf das kristallisierende Polymorph oder auf die Kristallmorphologie ausüben können.
Weiterhin ist in diesem Zusammenhang auffällig, dass Biomineralien oft hierarchisch gegliedert sind. Das bedeutet, dass auf verschiedenen Grössenebenen unterschiedliche Strukturierungsprinzipien erkennbar sind, die ineinander greifen. Dieses architektonische Prinzip führt oft zu komplexen Super- oder Überstrukturen [2]. Um die hier vorherrschenden Aufbaustrategien zu verstehen, ist es notwendig, nicht nur die makroskopischen Aspekte der Materialien zu betrachten, sondern auch strukturelle Details genauestens zu analysieren.

Viele Endo- und Exoskelette unterschiedlichster Lebensformen bestehen aus anorganischen Mineralien. Die ersten Funde fossiler, biogener Mineralien resultieren aus dem Kambrium (etwa 550 Millionen Jahre vor unserer Zeit), was der natürlichen Evolution genügend Zeit gab, ihre Biomineralisation zu verbessern. Lowenstam und Weiner geben in ihren Arbeiten einen Überblick über die Evolution der Biomineralisation [3].
Die ersten skelettbildenden Lebewesen verwendeten nicht alle dasselbe Mineral. Aus den fossilen Funden geht hervor, dass etwa ein Drittel aller Organismen Calciumphosphat (Apatit) und der überwiegende Großteil Calci-

umcarbonat (CC) verwendete. In den calcifizierenden Organismen fand fast ausschließlich das Polymorph Calcit Verwendung. Es sind nur zwei Beispiele bekannt geworden, aus denen sich schließen lässt, dass andere Materialien verwendet wurden: amorphes Siliciumdioxid und Magnetit (Bakterien) [3, 4]. Wahrscheinlich wurden jedoch auch andere Mineralien verwendet, doch ergaben sich bisher keine handfesten Hinweise darauf; möglicherweise sind diese Mineralien auch nicht erhalten geblieben. Vergleicht man Funde aus dem Kambrium mit heutigen Biomineralien, fällt sofort eine bemerkenswerte Ähnlichkeit auf [5]: Das Skelett einiger Stachelhäuter (*Echinodermata*) besteht beispielsweise aus charakteristischen Stachelstrukturen, die wiederum aus Calciteinkristallen aufgebaut sind. Die ersten Funde dieser Art aus dem Cambrium weisen die gleiche Basisstruktur auf. Ähnliches gilt auch für Muschelschalen: Fossile Funde weisen eine regelmäßige prismatische Anordnung auf, ein Strukturmotiv, das bis heute erhalten geblieben ist [5]. Heutige mineralisierende Organismen verwenden eine Vielzahl von Mineralien (vgl. Tab. 2.1). Die bisher entdeckten, an der Mineralisierung beteiligten organischen Makromoleküle sind sehr zahlreich und zeichnen sich durch eine große Vielseitigkeit hinsichtlich ihrer Strukturen aus [6].

1.3. Zusammensetzung von Biomineralien

Die überwiegende Mehrheit aller bekannten Biomineralien enthält nur ein anorganisches Mineral. Sind zwei oder mehr verschiedene Mineralien vertreten, so befinden sich diese in der Regel in verschiedenen Kompartimenten, wie es beispielsweise bei der Muschelschale der Fall ist. Die äußere, prismatische Schicht der Muschelschale besteht im Allgemeinen aus Calcit, während der innere Schalenteil, die Perlmuttschicht, aus Aragonit aufgebaut wird. Weiterhin sind organische Makromoleküle (Proteine, Polysaccharide) und Wasser Bestandteile dieser Materialien. Bis heute wurden mehr

Tabelle 1.1.: Übersicht zu den häufigsten Biomineralien. Weiterhin sind auch Fe_3S_4 [3], Eis (H_2O) [7, 8, 9, 10] und kupferhaltige Materialien [11] bekannt.

Mineral	**Chem.Formel**	**Organismus**	**Funktion**
Calciumcarbonat			
Calcit	$CaCO_3$	Coccolitho-phoridae	Exoskelett
		Trilobiten	optische Wahrneh-mung
		Muscheln	Exoskelett
Aragonit		Korallen	Exoskelett
		Muscheln	Exoskelett
		Gastropoden	Fortpflanzung
		Fische	Gravitations-sensor
Vaterit		Gastropoden	Exoskelett
amorph	$CaCO_3 \cdot xH_2O$	Pflanzen	Calciumspeicher
		Asseln	mechanische Eigenschaften
Calciumphosphat			
Hydroxyapatit	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	Vertebraten	Endoskelett
		Fische	Schuppen
Octacalcium-phosphat	$Ca_8H_2(PO_4)_6$	Vertebraten	Knochen/Zähne (Vorläufer)
Siliciumdioxid			
Amorphes Si-liciumdioxid	$SiO_2 \cdot xH_2O$	Diatomeen	Exoskelett
		Radiolarien	Skelett
		Pflanzen	Schutz (Blättern)
Eisenoxid			
Magnetit	Fe_3O_4	Bakterien	Orientierung
		Käferschnecken	Zähne

als 60 unterschiedliche, biologisch generierte Mineralien untersucht, von denen jedoch nur ein kleiner Teil zum Aufbau von Endo- oder Exoskeletten eingesetzt wird [3, 12]. Die beiden stabilen Polymorphe des Calciumcarbonats (Calcit, Aragonit) und amorphes Siliciumdioxid bilden den Großteil in dieser skelettbildenden Mineralgruppe. Weniger häufig findet man Vaterit, amorphes Calciumcarbonat und Apatit, wobei Apatit fast ausschließlich von Vertebraten verwendet wird. Amorphes Calciumcarbonat scheint jedoch als Vorläuferphase eine wichtige Rolle zu spielen.
S. Weiner und L. Addadi teilen die bekannten Biomineralien in drei Gruppen ein. Diese Unterscheidung erfolgt hinsichtlich der Organisation der Verwendung findenden mineralischen Komponenten [6]. In die erste Gruppe fallen Strukturen, die aus multikristallinen Bereichen aufgebaut sind. Strukturbildende Kristalle wachsen oft in alle drei Raumrichtungen. Zähne, Knochen und Schalen sind gut untersuchte Beispiele für diese Gruppe [13]. In die zweite Gruppe fallen Materialien, die fast ausschließlich aus Einkristallen bestehen. Organismen aus der Familie der Stachelhäuter sind hierfür ein Beispiel: Sie bilden große Skelettbereiche aus calcitischen Einkristallen [14]. In die dritte und letzte Gruppe fallen alle Materialien, die amorphe Komponenten enthalten. Siliciumdioxid ist dabei das am häufigsten anzutreffende Mineral. In Abbildung (2.1) ist zu jeder Gruppe ein Beispiel aufgeführt.

Der größte Unterschied zwischen biologischen generierten und synthetisch dargestellten Mineralien sind biologische Makromoleküle und die Kopplung der Mineralbildung an dynamische Wachstumsprozesse. Bei den organischen Bestandteilen der Biomineralien handelt es sich allgemein um lösliche als auch um unlösliche Proteine, Polysaccharide und andere, mit dem Mineral auf allen hierarchischen Ebenen interagierende Substanzen. Vor einigen Jahrzehnten war man noch der Meinung, dass die biologischen Makromoleküle im Speziellen einzigartig sind [6]. Jedoch hat die Forschung in den letzten Jahren gezeigt, dass eine Vielzahl von isolierten Verbindungen teil-

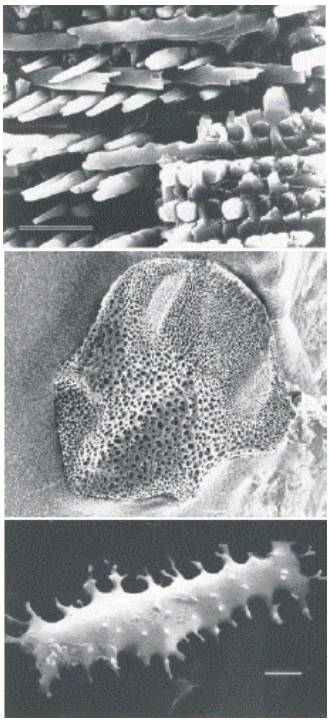

Abbildung 1.1.: Beispiele zur Einteilung der Biomineralien nach Weiner und Addadi [6]: (a) SEM Aufnahme der Dentinschicht eines Rattenzahns. Dieser Zahn ist aus einer Vielzahl von länglichen Apatitkristallen zusammengesetzt. (b) Eine Ventralplatte aus dem Arm eines Seesterns (*Ophiocoma wendti*). Die gesamte Struktur besteht aus einem Calcit-Einkristall. (c) Siliciumdioxid-Speicher (amorph) in der Zellwand einer Weizenpflanze (*Triticum aestivum*).

weise sehr ähnliche Strukturmotive aufweisen. Fast alle haben eine Gemeinsamkeit: Sie sind sehr reich an Carboxylatgruppen [15]. Weiterhin wurden neben diesen Carboxylatgruppen auch Phosphat- und Sulfatgruppen nachgewiesen. Durch die Anwesenheit von geladenen, funktionellen Gruppen werden biologische Makromoleküle zu ausgezeichneten Kandidaten für die Wechselwirkung mit polaren, ionischen Festkörpern [16, 17]. Addadi und Mitarbeiter haben eine große Zahl von biologischen Makromolekülen aus calciumcarbonathaltigen Geweben isoliert und charakterisiert. Diese von ihnen als *control macromolecules* (kontrollierende Makromoleküle) bezeichneten Substanzen wurden aufgrund ihrer Zusammensetzung in Gruppen eingeordnet. Eine Gruppe bilden die asparaginsäurehaltigen Proteine und Glykoproteine, eine weitere wird durch glutaminsäurehaltige und serinreiche Glykoproteine gebildet [18]. Makromoleküle, die relativ reich an Polysacchariden sind, bilden die letzte Gruppe. Diese Substanzen enthalten zu etwa 10

Mol% Glx, Asx und Ser-Aminosäuren. Man findet sie beispielsweise auch in Muschelschalen [19]. Diese Substanzklasse macht den geringsten Teil der Biomineralien aus. Neben dem anorganischen Teil finden sich zudem noch strukturgebende Makromoleküle, die eher hydrophoben Charakter besitzen und in der Lage sind, dreidimensionale Netzwerke aufzubauen [15]. Hierbei handelt es sich namentlich um Typ-I-Kollagen in Knochen und Zähnen, sowie um α-Chitin in Schalentieren und um β-Chitin in Muschelschalen [3]. Die Kollagene in Sehnen und Knochen zeichnen sich durch eine sehr hohe Zugfestigkeit und geringe Dehnbarkeit aus. In Säugern machen diese Faserproteine fast ein Viertel der Gesamtproteinmenge aus. In ihrer Sekundärstruktur unterscheiden sie sich und bilden α-Helices, die über Disulfidbrücken verknüpft sind, β-Faltblätter oder eine Kollagen-Tripel-Helix. Das häufige Vorkommen von Glycin erklärt sich aus der besonderen Struktur der Tripelhelix: Jeder dritte Rest der Polypeptidketten liegt im Zentrum der Tripelhelix, die so dicht gepackt ist, dass hier nur Glycin Platz findet. Die dichte, starre Tripelhelix-Struktur des Kollagens ist für seine charakteristische Zugfestigkeit verantwortlich. Die gegenläufige Verdrillung der einzelnen Polypeptidketten und der Tripelhelix selbst verhindert, dass die Windungen unter Spannung auseinander gezogen werden können (vgl. Abb. 1.2).

1.3.1. Calciumcarbonat

Calciumcarbonat kristallisiert in fünf verschiedenen kristallinen Polymorphen: Calcit, Aragonit und Vaterit sind unter Normalbedingungen stabil, wobei Calcit die thermodynamisch stabilste Modifikation darstellt. Zudem existieren noch zwei weitere Pseudopolymorphe: Calciumcarbonat Monohydrat und ein Hexahydrat, welche als instabil gelten und in der belebten Natur sehr selten anzutreffen sind [20, 21]. Das Hexahydrat wurde bis heute noch in keinem biologischem System nachgewiesen. Vaterit findet sich in den Stacheln einiger Seescheiden (Ascidien) [22], in Gravitationssensoren [3]

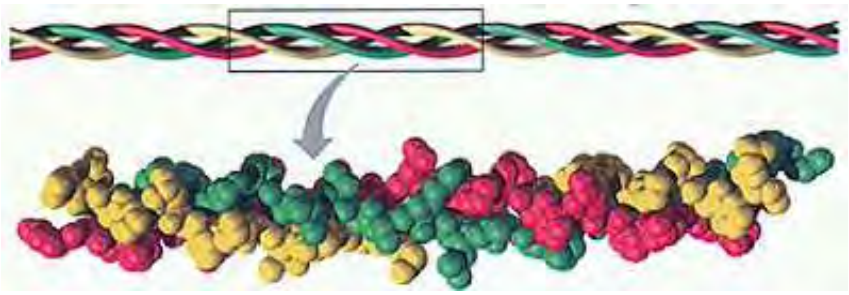

Abbildung 1.2.: Schematische Darstellung einer Kollagen-Tripel-Helix-Struktur. Jeder dritte Rest der Polypeptidkette liegt im Zentrum der Helix, was zu einer sehr dichten Packung führt. Eine Verdrillung der einzelnen Polypeptidketten und der Tripelhelix selbst verhindert eine Entwindung der Struktur unter Spannung.

und in Eierschalen einiger Gastropoden [23]. Zusammenfassend betrachtet ist diese Modifikation des Calciumcarbonats in der Natur jedoch eher selten. Das instabile, amorphe Calciumcarbonat findet sich in vielen Organismen [24]. Im Allgemeinen wird es durch Kristallisationsinhibitoren stabilisiert. In jüngster Zeit ist man davon überzeugt, dass amorphem Calciumcarbonat eine Schlüsselrolle in der Biomineralisation zukommt. Darüber hinaus sind Calcit und Aragonit die mit Abstand häufigsten Polymorphe. Daher wird im folgenden auf diese drei Vertreter im Detail eingegangen.

1.3.2. Amorphes Calciumcarbonat (ACC)

In der Literatur wird die Bedeutung von ACC immer stärker hervorgehoben und es existieren eine Vielzahl von Arbeiten, die sich mit diesem Thema beschäftigen. In diesem Zusammenhang sei auf Arbeiten von Addadi und Weiner verwiesen [25, 26]. ACC stellt für einen Organismus eine Alternative zum Gebrauch von kristallinen Mineralien dar, denn es handelt sich um ein isotropes Material, was mechanische Belastungen von allen Seiten gleich gut aufnehmen kann. Weiterhin ist anzunehmen, dass Organismen dieses

Tabelle 1.2.: Auflistung bekannter Vorkommen von ACC in natürlichen Organismen

Reich	**Form**	**Funktion**	**Polymorph**
Pflanzen	Cystolithen	unbekannt	Calcit, Aragonit, **ACC**
Gliederfüßler	Oberhaut	Härtung von Geweben	**ACC**, Calcit
Krustentiere	Gastrolithen	Speicherfunktion	**ACC**
Schwämme	Stachelkern	unbekannt	Calcit, **ACC**
Ascidien	Stacheln	Härtung von Geweben	Calcit, **ACC** Aragonit, Vaterit, **ACC**, CC Monohydrat
Stachelhäuter	Larvenstachel	Vorläuferphase	Calcit, **ACC**
Korallen	Stacheln	mechanische Verstärkung	Calcit, Aragonit, **ACC**
Muscheln	Granularien	Speicherfunktion	**ACC**, Vaterit
	Schale	Vorläuferphase	Aragonit, **ACC**
Schnecken	Schale	Härtung (?)	**ACC**

Material leichter *in Form bringen* können, als dies mit kristallinen Stoffen möglich wäre. Es gibt viele Organismen, die ihre strukturgebenden Gewebe durch den Einsatz von amorphen Materialien stärken. Wie bereits erwähnt ist amorphes Siliciumdioxid ein häufiger Vertreter [27], auch amorphes Calciumphosphat findet sich in der Natur [28]. Tabelle (1.2) zeigt bekannte ACC-Vorkommen in verschiedenen Organismen.

Amorphes Calciumcarbonat unterscheidet sich von den kristallinen Polymorphen des Calciumcarbonats in vielerlei Hinsicht: Wird es im polarisierten Licht betrachtet, so erscheint es isotrop und es streut keine Röntgenstrahlung, kann also mit Hilfe von XRD-Methoden nicht detektiert werden. Aus diesem Grunde ist es üblich, derartige Materialien als amorph

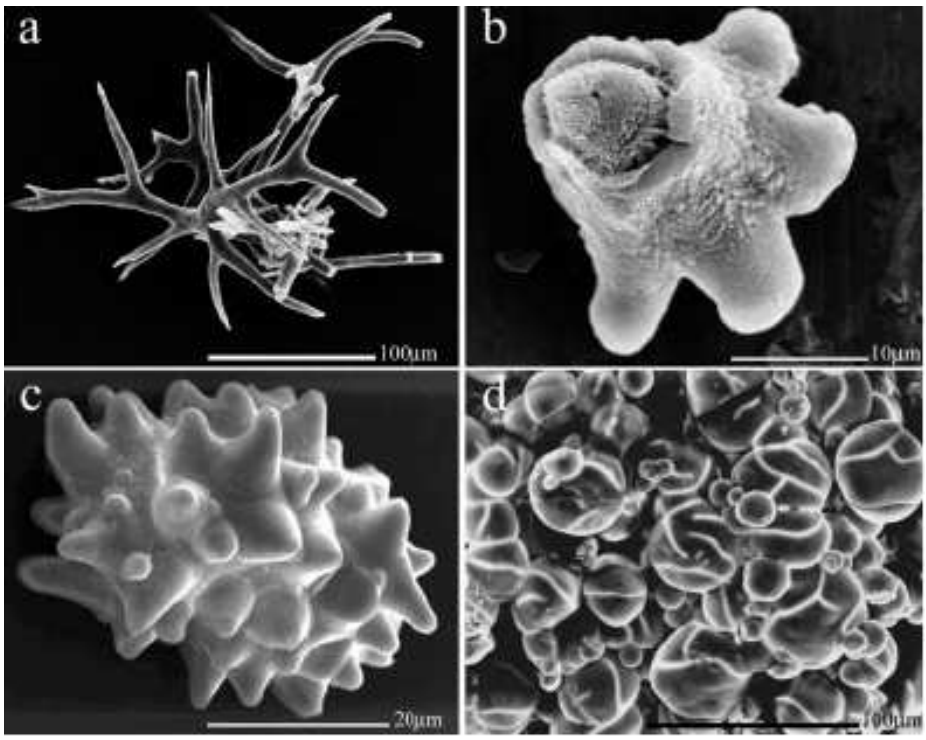

Abbildung 1.3.: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von ACC-Strukturen in biologischen Systemen. (a) Stachelstruktur einer Seeigellarve (*Pyura pachydermatia*). (b) Gefrierbruch eines Stachels derselben Spezies. (c) ACC-Deposit aus den Blättern einer Pflanze (*Ficus*- Baum). (d) ACC-Granularien aus den CC-Speicherdepositen einer Asselart (*Orchestia cavimana*) [6].

zu bezeichnen. Es hat sich jedoch gezeigt, dass diese Bezeichnung etwas irreführend ist, denn aus einigen Arbeiten geht hervor, dass ACC eine gewisse Nahordnung aufweist und dass diese von Organismus zu Organismus sehr stark variieren kann [25].

Die ersten Arbeiten vor nahezu 100 Jahren, die sich mit biogenem ACC beschäftigen, zeigten, dass ACC unter polarisiertem Licht isotrop [29] erscheint und keine Röntgenstrahlen beugt [30]. Bis heute ist der Wissenszuwachs auf diesem Gebiet eher spärlich. Jedoch ist deutlich geworden, dass

ACC in vielen Organismen als Calciumcarbonatspeicher verwendet wird, was wahrscheinlich auf dessen gute Löslichkeit zurückzuführen ist. Beispielsweise ist von terrestrischen Asseln (*Orchestia cavimana*) bekannt, dass diese über große Calciumcarbonatspeicher in Form von ACC verfügen (vgl. Abb. 2.2) [31]. Diese Organismen besitzen ein Exoskelett bestehend aus Calciumcarbonat, das größtenteils aus Calcit besteht, jedoch auch Spuren von Vaterit enthält. Dieses Exoskelett bedarf regelmäßiger Erneuerung, was schnell verfügbare Reserven an Calciumcarbonat notwendig macht. Auch in anderen Arten wurden derartige ACC-Speicherstätten gefunden [32]. Zudem konnte beobachtet werden, dass ACC auch als Hartmacher für Exoskelette Verwendung findet (vgl. Tab. 1.2). Weiterhin findet ACC Verwendung als Vorläuferphase für Calcit in Seeigellarven [33] und als Vorläuferphase für Aragonit in Muschellarven [34]. Dieses Beobachtung ist nicht nur auf das Calciumcarbonatsystem beschränkt. Lowenstam und Weiner geben eine Übersicht über eine Vielzahl von Beispielen, in denen aus Vorläuferphasen biogene, kristalline Materialien gebildet werden [3]. Unter anderem finden sich dort Beispiele zur Bildung von Apatit, Magnetit und auch zu anderen Eisenmineralien.

1.3.3. Stabilität und Struktur von biogenem ACC

Biologisch generierte ACC-Phasen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Stabilität deutlich voneinander. Beispielsweise ist ACC, das als Gewebeverstärker dient stabil, und sogar ACC aus CC-Speicherdepositen ist solange stabil, bis es in gelöster Form vorliegt. Dem gegenüber stehen die ACC-Deposite in einigen Pflanzen (vgl. Bild C in Abb. 2.2), welche - einmal aus diesen extrahiert - schnell in Calcit transformieren [35]. Im Allgemeinen war über die Zusammensetzung von biogenem ACC bis vor einigen Jahren wenig bekannt, wenn man die Tatsache ausser Acht lässt, dass es unter polarisiertem Licht isotrop erscheint. Chemische Analysen von unterschiedlichen ACC-

Proben zeigten, dass dieses Material in der Natur oft zusammen mit Magnesium und/oder Phosphor auftritt, was zu der Annahme führte, dass diese Komponenten einen Einfluss auf die Stabilisierung der ACC-Phasen haben können. Aus thermogravimetrischen Untersuchungen (TGA bzw. DTA) von ACC geht hervor, dass die stöchiometrische Zusammensetzung der Phasen ähnlich ist. Gefunden wurden immer äquimolare Verhältnisse von $CaCO_3$ zu Wasser [35].

Infrarotspektroskopie (IR) an ACC deuteten erstmalig darauf hin, dass verschiedene Nahordnungen in biologischen Proben auftreten können. Im IR-Spektrum von ACC findet man bei 1450 cm^{-1} zwei Absorptionsbanden, die von der Carbonatgruppe herrühren. Im Calcit oder im Aragonit findet sich an dieser Stelle jeweils nur eine Bande. Auch weisen Vaterit und Calciumcarbonat-Monohydrat ebenso diese Teilung der Bande auf, was mit der asymmetrischen Umgebung der Carbonatgruppe begründet werden kann. Weiter findet man bei 866 cm^{-1} eine Absorptionsbande, die, verglichen mit den kristallinen Phasen, verbreitert auftritt. Ein weiterer, deutlicher Unterschied ist die sehr breite Bande bei etwa 710 cm^{-1}, die bei Calcit und Aragonit als scharfe Absorption bei 713 cm^{-1} in Erscheinung tritt. Die Abwesenheit dieser scharfen Bande ist ein gutes Indiz für das Vorliegen von reinem ACC (vgl. Abb. 1.4).

Auch die Raman-Spektroskopie ist ein gutes Mittel, um Calciumcarbonat zu charakterisieren. ACC weist hier nur zwei breite Signale um 1085 cm^{-1} und um 150 - 300 cm^{-1} auf. Im Gegensatz dazu findet man bei allen kristallinen Polymorphen eine Reihe von scharfen Banden, anhand derer das Polymorph leicht identifiziert werden kann (vgl. Abb. 1.5).

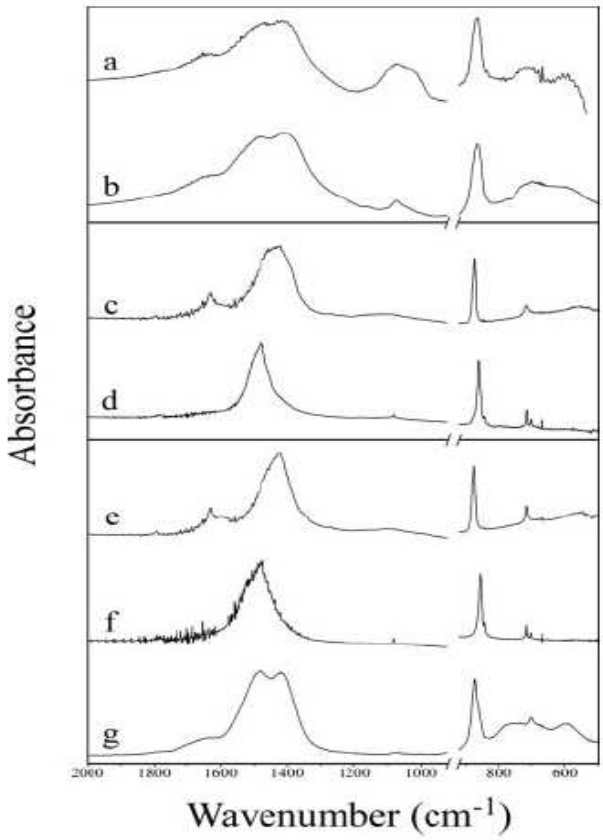

Abbildung 1.4.: IR-Spektren von (a) - (d) nach [25]: ACC, (e): Calcit, (f): Aragonit, (g): Calciumcarbonat Monohydrat. Im Wellenzahlbereich von 920-500 cm^{-1} wurden die Intensitäten in Bezug zur ν_2-Schwingung normalisiert. Die IR-Spektren von stabilem ACC zeichnen sich durch eine Doppelbande im Bereich 1420 und 1474 cm^{-1} aus. Es handelt sich hierbei um die asymmetrische Streckschwingung des Carbonations (ν_3). Dieser Mangel an Symmetrie in der Umgebung des $CO_3{}^{2-}$ wird auch durch das Vorhandensein einer breiten Bande bei 1080 cm^{-1} zum Ausdruck gebracht (ν_1), es handelt sich dabei um eine Streckschwingung in nicht centro-symmetrischen Strukturen [36]. Die *out-of-plane*-Schwingungsbande erscheint bei 866 cm^{-1} (ν_2) und tritt im ACC verbreitert auf. Bei den kristallinen Polymorphen findet man eine scharfe Bande.

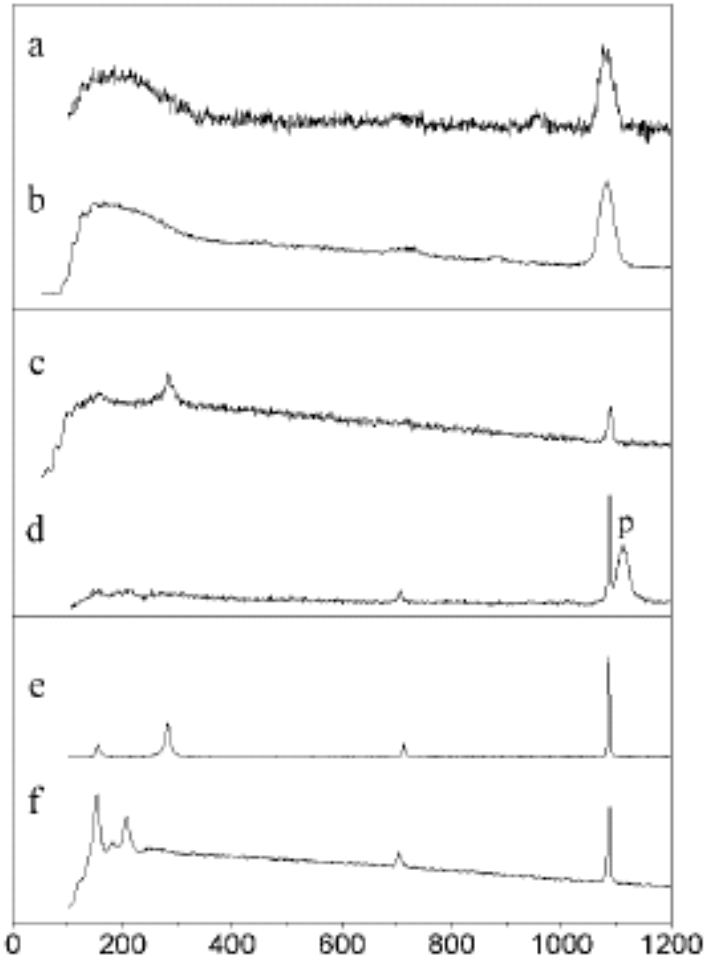

Abbildung 1.5.: Ramanspektren verschiedener Formen von CC nach [25]: (a) - (d) ACC (das mit *p* bezeichnete Signal resultiert aus einer Verunreinigung der Probe), (e) Calcit, (f) Aragonit. Die Ramanspektren von stabilem ACC zeichnen sich durch einen breiten *peak* bei 150-300 cm^{-1} aus. Auch ist die symmetrische Carbonat-Streckschwingung bei 1085 cm^{-1} breiter, als es bei den kristallinen Polymorphen der Fall ist.

Weitere strukturelle Informationen über ACC sind durch EXFAS-Messungen zugänglich. Diese Methode ist hilfreich, Nahordnungen um ein gewähltes Zielatom aufzudecken [37]. Die ersten EXFAS-Messungen an ACC wurden von Taylor *et al.* durchgeführt [38]. Die Untersuchungen wurden an Depositen aus den Blättern eines *Ficus*-Baumes durchgeführt. Das Ergebnis zeigte tatsächlich eine Nahordnung um die Calciumatome bezüglich der Anzahl der koordinierenden Atome in der ersten und zweiten Koordinationssphäre. Vergleichende EXFAS-Studien von ACC aus Seeigelstacheln, den Cystolithen einer anderen *Ficus*-Baumart und der Oberhaut von Hummern ergaben, dass alle ACC-Formen unterschiedlich sind [35, 39]. Die Unterschiede beziehen sich hauptsächlich auf die Anzahl der Atome in der ersten, zweiten und dritte Koordinationssphäre des Calciums (vgl. Tab. 1.3). Diese Untersuchungen zeigen, dass die bisherigen Vorstellungen von ACC, als einem einheitlichen Material, verändert werden müssen. ACC ist vielmehr eine Familie aus verwandten Phasen, mit unterschiedlichen Strukturmerkmalen. Die Unterschiede werden vom jeweiligen Organismus bestimmt und unterliegen genetischer Kontrolle. Vermutlich kann die Stabilität der unterschiedlichen ACC-Phasen mit der vorliegenden Nahordnung erklärt werden.

Tabelle 1.3.: Aus EXFAS Messungen ermittelte Koordinationszahlen (KZ) des Calciums in der ersten, zweiten und dritten Koordinationssphäre und die entsprechenden Abstände d [$\AA$][35, 39].

ACC Quelle	**Erste Schale**		**Zweite Schale**		**Dritte Schale**	
	Ca-O KZ	$d[\AA]$	Ca-O KZ	$d[\AA]$	Ca-O KZ	$d[\AA]$
Hummer-schale	2	2.23	4	3.47	2	3.79
	4	2.41				
Pflanzen	3	2.22	2	3.46	4	3.79
	3	2.42				
Seeigel-stachel	7.4	2.37	1.5	3.03	–	–

1.3.4. ACC als Vorläuferphase für Calcit oder Aragonit

Seit langem ist bekannt, dass Seeigellarven Stacheln ausbilden, die einkristalline Eigenschaften aufweisen [40]. In jüngerer Zeit wurden Larvenstacheln unterschiedlicher Spezies wiederholt untersucht und dabei zeigte sich, dass die bei Röntgenbeugungsexperimenten gemessene Streuintensität zu gering für das Gesamtvolumen des vorhandenen Materials ist. Da der Stachel jedoch nur aus Calciumcarbonat besteht, wurde gefolgert, dass ein Großteil aus ACC bestehen muss [41]. Sehr deutlich wurde diese Tatsache anhand von Studien, die an 48 h und 96 h alten Larven durchgeführt wurden. So zeigte sich, dass die Streuintensität bei den älteren Larven im Vergleich zu den jüngeren deutlich zugenommen hat [33]. Das Vorhandensein von ACC wurde schließlich zweifelsfrei durch spektroskopische Methoden (IR) nachgewiesen [33]. Ähnliche Experimente an einer anderen Seeigelspezies (*Strongylocentrotus purpuratus*) untermauerten diese Ergebnisse [42]. Das Stachelwachstum beginnt an einem kleinen Calciteinkristall [43] und setzt sich in einer Raumrichtung fort. Die wachsenden Stacheln weisen eine run-

de und weiche Oberflächen auf, was eher darauf hindeutet, dass sie aus ACC bestehen könnten. Diese Vermutung wurde von Beniash *et al.* auch bestätigt [33]. Es wurde gezeigt, dass der größte Teil der Stacheln aus ACC besteht und dass der zentrale Calcitkristall langsam in die ACC-Phasen hinein wächst, ohne dabei jedoch eine klare Kristallisationsfront auszubilden. Mehr über die Art und Weise der Umwandlung von ACC in eine kristalline Phase zu erfahren, wäre durchaus wünschenswert. Es existieren zahlreiche Beispiele, in denen ACC als Vorläuferphase identifiziert wurde. So haben Weiss *et al.* über die Schalenbildung von Muschellarven berichtet [34]. In diesen Arbeiten zeigen sie, dass ACC als Vorläuferphase des Aragonits verwendet wird.
Auffällig ist, dass von allen untersuchten Variationen von biogenem ACC dasjenige, welches als instabile Vorläuferphase in Erscheinung tritt, kein Strukturwasser enthält. Dies wurde durch TGA-Untersuchungen gezeigt [42]. Stabile ACC-Formen enthalten jedoch - soweit bis heute bekannt - immer Wasser und entsprechen in der Regel der Stöchiometrie $CaCO_3 \cdot H_2O$ [35].

1.3.5. Calcit, Aragonit und Vaterit

Calcit und Aragonit zeigen in ihren Kristallstrukturen strukturelle Ähnlichkeiten (vgl. Abb. 1.6) und sind thermodynamisch ähnlich stabil [20]. Aragonit ist unter Standardbedingungen etwas weniger stabil als Calcit, jedoch in der Biomineralisation ein ähnlich häufig anzutreffendes Mineral. Sowohl die Calcit- als auch die Aragonitkristallstruktur lässt sich durch abwechselnde Schichten aus Ca-Ionen und CO_3-Ionen senkrecht zur kristallographischen c-Achse beschreiben. Die Ca-Ionen besetzen in beiden Strukturen fast dieselben Gitterpositionen und die Molekülebene des Carbonations liegt parallel zur ab-Ebene. Die Unterschiede in den Strukturen liegen darin, dass einige der Carbonationen im Aragonit um 0.96 $\AA$ aus der Ebene heraus in

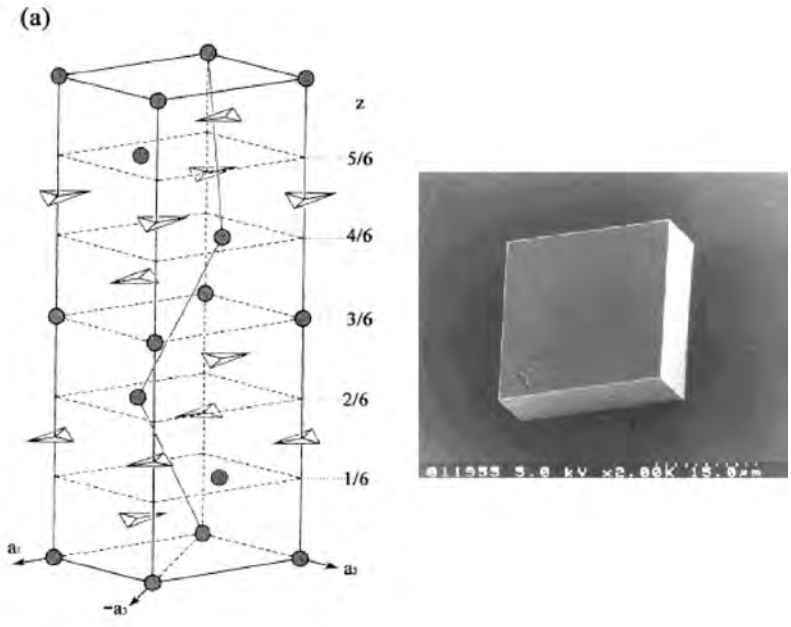

Abbildung 1.6.: Die thermodynamisch stabilste Form des Calciumcarbonats, der Calcit, hat die kristallographische Raumgruppe $R\bar{3}c$. Es existieren zwei Einheitszellen für den Calcit: eine rhomboedrische und eine pseudo-hexagonale Zelle. Für die rhomboedrische Zelle gilt $|a| = |b| = |c|$ und $\alpha = \beta = 90^o$ $\gamma = 120^o$. Für die pseudo-hexagonale Zelle gelten etwas andere Beziehungen: $|a| = |b| = 4.99\mathring{A}, |c| = 17.06\mathring{A}$ und $\alpha = \beta = 90^o$, $\gamma = 120^o$. Die äussere Form der im Gleichgewicht gewachsenen Kristalle ist das Rhomboeder, die Flächen des Rhomboeders stellen die {10.4}-Kristallflächen dar (aus: [44]).

c-Richtung verschoben sind und somit eine zweite Schicht parallel zur ersten bilden. Auch die Koordination der Ca-Ionen im Aragonit unterscheidet sich von der im Calcit: Im Aragonit hat das Ca neun direkte O-Nachbarn, die von sechs umgebenden CO_3-Gruppen stammen (vgl. Abb. 1.7). Zudem sind alle Ca-O-Abstände im Aragonitgitter größer als es im Calcit der Fall ist. Jedoch ist zu beachten, dass der Aragonit trotzdem eine höhere Dichte aufweist, was in der dichteren Packung der Ionen insgesamt begründet liegt.

Im Calcit sind alle CO_3-Gruppen in einer Schicht gleich orientiert: Ein

Ca hat sechs direkte CO_3-Nachbarn, von denen jeweils ein O-Atom zum Ca orientiert ist, was zu einer oktaedrischen Koordination des Calciums führt. Das Wachstum des Aragonits verläuft unter Standardbedingungen entlang der kristallographischen *c*-Achse, was zu nadelförmigen Kristallen führt. Im Gegensatz dazu führt die Kristallisation von Calcit zu Rhomboedern, die durch {10.4}-Flächen begrenzt werden. Die Stabilität dieser Flächen kann leicht verstanden werden, wenn man beachtet, dass diese abwechselnd aus Ca^{2+}- und $CO_3{}^{2-}$- Ionen aufgebaut sind. Eine Fläche von hoher Stabilität bringt jedoch immer relativ geringe Wechselwirkungen zwischen diesen Schichten mit sich[1]. Daher ist die große Stabilität der {10.4}-Fläche des Calcits auch gleichzeitig dessen größte Schwäche, denn sie führt direkt zu sehr guter Spaltbarkeit entlang dieser Flächen [46]. Im Gegensatz dazu existieren im Aragonit keine vergleichbaren Spaltflächen [47]. Vergleicht man nun Vor- und Nachteile der beiden Polymorphe, so kann man zusammenfassen, dass Calcit große, jedoch brüchige Kristalle bildet, während im Aragonit keine Spaltflächen existieren. Dieses System bildet jedoch kleine, nadelförmige Kristalle, die dazu tendieren, nadelig verwachsene Kristallaggregate zu formen. Warum Organismen bestimmte Polymorphe einem anderen vorziehen, ist noch nicht geklärt. So findet man beispielsweise in der prismatischen Schicht der Muschelschale in der Regel Calcit. Jedoch bauen einige Muscheln ihre prismatische Schicht aus Aragonit auf [48], ein offensichtlicher Vorteil lässt sich aus dieser Beobachtung jedoch nicht direkt ableiten.

[1] Die Summe aus potentieller Flächenenergie und Wechselwirkungsenergie der Kristallflächen ist aufgrund der Gesamtenergie des Kristalls konstant [45].

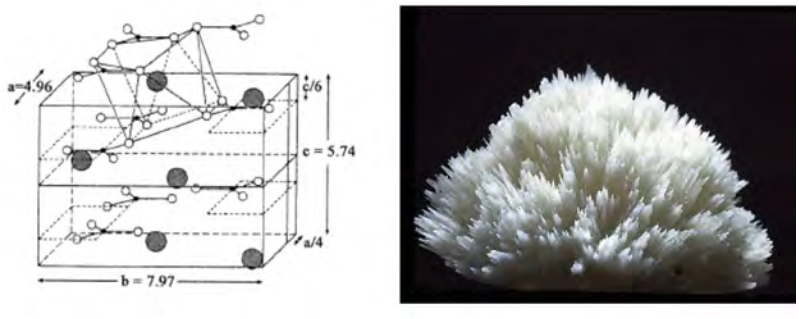

Abbildung 1.7.: Aragonit ist unter Standardbedingungen etwas weniger stabil als Calcit. (a) zeigt die orthorhombische Einheitszelle mit den Parametern $|a| = 4.962\mathring{A}, |b| = 7.968, |c| = 5.744\mathring{A}$ und $\alpha = \beta = \gamma = 90^o$, mit der Raumgruppe $Pmcn$. Üblicherweise wächst Aragonit in Nadeln entlang der kristallographischen c-Achse (aus: [44]).

Der Vaterit (vgl. Abb. 1.8) als dritte wasserfreie Form des Calciumcarbonats kann in einer hexagonalen Einheitszelle beschrieben werden, in der die Ca^{2+} - und $CO_3{}^{2-}$ - Ionen wiederum in alternierenden Schichten parallel zur c-Achse angeordnet sind. Im Gegensatz zu Calcit und Aragonit liegt die Ebene, welche durch die CO_3 Gruppen aufgespannt wird, exakt parallel zur c-Achse [20]. In der Natur ist Vaterit relativ selten anzutreffen. Synthetisch lässt er sich jedoch leicht bei hohen Temperaturen herstellen, wandelt sich jedoch sukzessive in stabilere Polymorphe um [49, 50].

1.3.6. Organische Makromoleküle

Da Organismen nicht in der Lage sind, über Druck- und Temperaturänderungen das Kristallisationsverhalten von Mineralien zu verändern, müssen sie sich anderer Mittel bedienen. In diesem Zusammenhang spielen organische Makromoleküle eine wichtige Rolle. Durch den Einsatz derartiger Substanzen gelingt eine Kontrolle über Morphologie, Orientierung und Polymorph des Minerals. Die Vielzahl der Calciumcarbonat-Biomineralien ent-

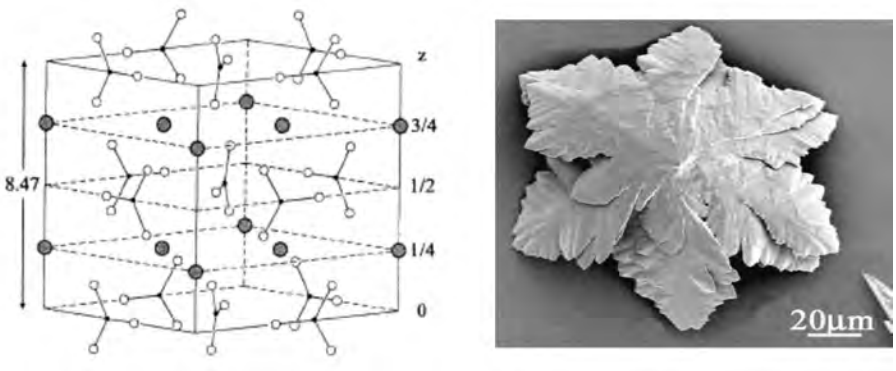

Abbildung 1.8.: Vaterit ist das thermodynamisch instabilste Polymorph. Bild (a) zeigt die hexagonale Einheitszelle des Vaterits mit $|a| = |b| = 7.147$ und $|c| = 16.917$. Die SEM-Aufnahme (rechts) zeigt eine typische Vaterit-*Blume* (aus: [44]).

halten organische Bestandteile in der Größenordnung von wenigen Gewichtsprozent. Über die Natur dieser Makromoleküle ist durch eine Vielzahl von Arbeiten sehr viel bekannt: Allgemein sind diese Verbindungen negativ geladen und beinhalten Carboxyl-, Sulfat- oder Phosphatgruppen. Asparagin- und Glutaminsäureeinheiten sind ebenso weit verbreitet, wie kovalent angebundene Polysaccharide, die wiederum sulfatisierte oder carboxylierte Endgruppen tragen [51, 52]. In isolierten Polypeptiden fand man nicht nur lange Sequenzen von poly-Asp, sondern auch sich wiederholende Blöcke von poly-Asp, die in der Regel durch Glycin- oder Serinreste getrennt sind [51]. Derartige Sequenzen sollten die Eigenschaft haben, Ca-Ionen zu binden und somit Einfluss auf das Kristallisationsverhalten nehmen zu können. Ausserdem ist Poly(Asparaginsäure) in der Lage eine β-Faltblattstruktur einzunehmen, von der angenommen wird, dass diese selektiv mit Kristallflächen wechselwirken kann. Diese Art der strukturellen Wechselwirkung scheint eine wichtige Rolle in der Biomineralisation zu spielen.
Durch synthetische Moleküle kann die Art und Weise der Wechselwirkung

von Makromolekülen und Kristallgrenzflächen gezielt überprüft werden. Hierzu sind unter anderem Langmuir-Monoschicht-Experimente geeignet, auf die in Abschnitt 1.5.4 detailliert eingegangen wird.
Eine andere Art der Manipulation des Kristallisationsvorgangs liegt in der Verwendung einer als Templat dienenden organischen Matrix [6]. Die Kontrolle über die Orientierung der wachsenden Kristalle scheint vom Grad der Organisation in der zugrundeliegenden Matrix abzuhängen [53, 54]. Weiterhin kann die Nukleationsrate des Calciumcarbonats und dessen Morphologie durch immobilisierte Makromoleküle beeinflusst werden, die sich auch gleichzeitig in Lösung befinden [52, 55, 56]. In diesem Zusammenhang sei auf verschiedene Arbeiten hingewiesen: Sugawara *et al.* [57] verwendeten Chitosan-Templates und kristallisierten auf diesen in Gegenwart von Magnesiumionen und Poly(Aspartat) Dünnfilme aus Aragonit. Die erhaltenen Strukturen haben strukturell zwar keine besondere Ähnlichkeit mit der Perlmuttschicht in Muschelschalen, jedoch gelang es erstmalig artifizielle Aragonitdünnfilme herzustellen. Ein Jahr zuvor (1999) erzeugten Kato *et al.* mit Calciumcarbonat beschichtete Fasern. Diese Fasern wurden zuvor mit Chitin bedeckt bzw. bestanden aus Chitin. Die Kristallisation erfolgte in Gegenwart von sauren Polymeren, wie Poly(Asparagin), Poly(Glutamin) und Poly(Acrylsäure). Auffällig bei diesen Experimenten ist das Zusammenspiel einer Nukleationsmatrix (Templat) und den Wachstumsinhibitoren in Lösung, die zusammen einen starken Einfluss auf das Kristallisationssystem ausüben.
Betrachtet man das biogene ACC, so ist relativ wenig über assoziierte organische Makromoleküle bekannt. In einigen Organismen besteht die organische Matrix hauptsächlich aus α-Chitin, zudem sind eine ganze Reihe von Proteinen nachgewiesen worden, von denen auch einige charakterisiert wurden [58]. Noch ist unbekannt, welche Proteine in den Bildungsmechanismus und in den Stabilisierungsprozess des ACC eingebunden sind. Betrachtet

man die ACC-Speicherstätten in einigen Gastrolithen, so findet man, dass eingebundene Proteine sehr oft Wiederholungseinheiten von Glutaminsäure aufweisen [59]. Auch wurden Proteine aus Schwämmen extrahiert, deren Funktion vermutlich in der Stabilisierung von ACC besteht; jedenfalls wurden diese Proteine aus ACC-reichen Geweben gewonnen, und auch hier wurden Glumatinsäure und Glutamin-Wiederholungseinheiten entdeckt [18]. Von Gower *et al.* [60] wurde beobachtet, dass sich ACC als Vorläuferphase in einem artifiziellen Kristallisationssystem stabilisieren lässt. Die Kristallisation wurde durch die Anwesenheit eines sauren Makromoleküles (Poly(Asparaginsäure)) unterdrückt. In diesem Diffusionsansatz beobachtete man nach einer kritischen Induktionszeit eine flüssig-flüssig-Phasenseparation. Die sich abscheidenden Tropfen mit einem Durchmesser von 2 - 4 μm bilden einen Dünnfilm auf einer Glasoberfläche und beginnen zu kristallisieren, so dass sich diskrete Bereiche von CC-Strukturen bilden. Dieser gesamte Prozess wurde als *Polymer-induced liquid-precursor*-(PILP)-Prozess bezeichnet und macht deutlich, wie wichtig ACC als Vorläuferphase einzustufen ist.

1.3.7. Einfluss von Magnesium auf die Kristallisation von Calciumcarbonat

Das Magnesiumion (Mg^{2+}) hat einen signifikanten Einfluss auf die Calciumcarbonatkristallisation. Ab einer bestimmten Konzentration wird nicht mehr das thermodynamisch stabilste Polymorph gebildet, sondern es kristallisiert ausschließlich Aragonit [20, 61, 62]. Das Mg^{2+}-Ion ist im Vergleich zum Ca^{2+}-Ion kleiner und härter, daher hat es eine größere Hydrathülle. Es wird leicht auf der Oberfläche des wachsenden Calcitkristalls adsorbiert, was dazu führt, dass es die Ausbildung eines ungestörten Calcitgitters verhindert [20, 61]. Derartige Störungen im wachsenden Calcitkristallkeim können vermutlich durch die Ausbildung einer amorphen Vorläuferphase ausgeheilt

werden [63]. Magnesiumhaltiger Calcit ist wasserlöslicher als normaler Calcit, was zu einer verminderten thermodynamischen Triebkraft für die Kristallisation führt [64]. Da Mg^{2+}-Ionen nicht in das Aragonitkristallgitter eingebaut werden, stören sie dessen Kristallisation nicht. Aus diesem Grund kristallisiert ab einer kritischen Übersättigung des Systems kein Calcit, sondern ausschließlich das Polymorph Aragonit [20, 61, 64].
Eine biomimetische Darstellung zur Erzeugung von Mg-haltigem Calcit gelingt unter dem Einfluss von Kristallisationsihibitoren, die die Bildung von Aragonit unterdrücken [65, 63, 66]. Der Einbau von Magnesium in das Calcitgitter führt zu einer Änderung der Morphologie. Aus atomistischen Simulationen geht hervor, dass Magnesium bevorzugt an {10.0}-Kristallflächen adsorbieren sollte, was dann zu einer Stabilisierung dieser Flächen führt [67]. Jedoch zeigten Experimente, dass bevorzugt die {01.1}-Kristallfläche betroffen ist [68]. Magnesiumhaltiger Calcit ist in Richtung der kristallographischen *c*-Achse verlängert und wird jeweils von {10.4}-Flächen begrenzt [66]. Ab einem Magnesiumanteil über 5 - 7 % bilden sich polykristalline Aggregate, da der hohe Anteil an Magnesium das Wachstum der Kristallkeime zu stark inhibiert. Dies resultiert in einer Aggregation von überkritischen Kristallkeimen zu einem polykristallinen Aggregat [69]. Die von den jeweiligen Ca/Mg-Verhältnissen abhängigen Morphologien sind zahlreich und reichen von sphärischen bis zu hantelförmigen Gebilden.

1.4. Das Nukleationsmodell in der Biomineralisation

Bis vor einigen Jahren war man der Meinung, dass orientiertes Kristallwachstum an einer organischen Matrix stattfindet, die direkt mit einer spezifischen Kristallfläche wechselwirkt. Zudem wurde angenommen, dass diese Wechselwirkungen epitaktischer Natur sein müssten, da einfach geladene

Substrate nicht spezifisch genug wären [44]. Zur Untermauerung dieser These wurden verschiedene Experimente durchgeführt. Dabei wurde gezeigt, dass biologische Makromoleküle einen Einfluss auf die Orientierung des wachsenden Kristalls haben [70, 71]. In diesen Arbeiten wurden Asp-reiche Proteine aus dem aragonitischen und calcitischen Teil einer Muschelschale auf Glasoberflächen abgeschieden. Diese modifizierten Oberflächen wurden anschließend als Kristallisationstemplat verwendet und es wurde ausschließlich {00.1}-orientiertes Wachstum von Calcit beobachtet. Die Morphologie der Kristalle entsprach der einer Rhomboederstruktur. Diese Fähigkeit von Proteinen, Einfluss auf die Orientierung von wachsenden Kristallen auszuüben, wurde dem β-Faltblattmotiv zugeschrieben, welches die Proteine nach der Adsorption auf Glasoberflächen annehmen sollten. In dieser Anordnung bilden die Asp-reichen Makromoleküle flache Bereiche, deren Oberfläche mit Carboxylatgruppen bedeckt ist, die wiederum ideal Ca-Ionen aus der umgebenden Lösung komplexieren können (vgl. Abb. 1.9).

Ein Beispiel für biologische Kontrolle, sowohl über die Kristallorientierung, als auch über das Polymorph, ist die Bildung von Perlmutt in Muschelschalen. Der innere Teil der Muschelschale besteht aus stapelförmig angeordneten Aragonitplättchen. Die einzelnen Plättchen haben einen Durchmesser von 5 - 10 μm und eine Dicke von etwa 500 nm (vgl. Abb. 1.11). Diese regelmäßige Anordnung und die Dimensionen der Plättchen sind verantwortlich für den irisierenden Glanz der inneren Muschelschale. Zudem haben Untersuchungen gezeigt, dass die mechanische Zugfestigkeit einer solchen Schale bis zu 3000 Mal höher ist, als es bei gewöhnlichem Aragonit der Fall ist. Dies ist auf die Mikrostruktur der Schale zurückzuführen, welche genetischer Kontrolle unterliegt [72, 73]. Die einzelnen, polygonalen Aragonitplättchen verhalten sich einkristallin und sind von einer organischen Hülle umgeben, wobei die organischen Bestandteile der Schale im Bereich von 3 - 5 Gew.% liegen [74, 75]. In allen bekannten Muscheln findet man, dass die kris-

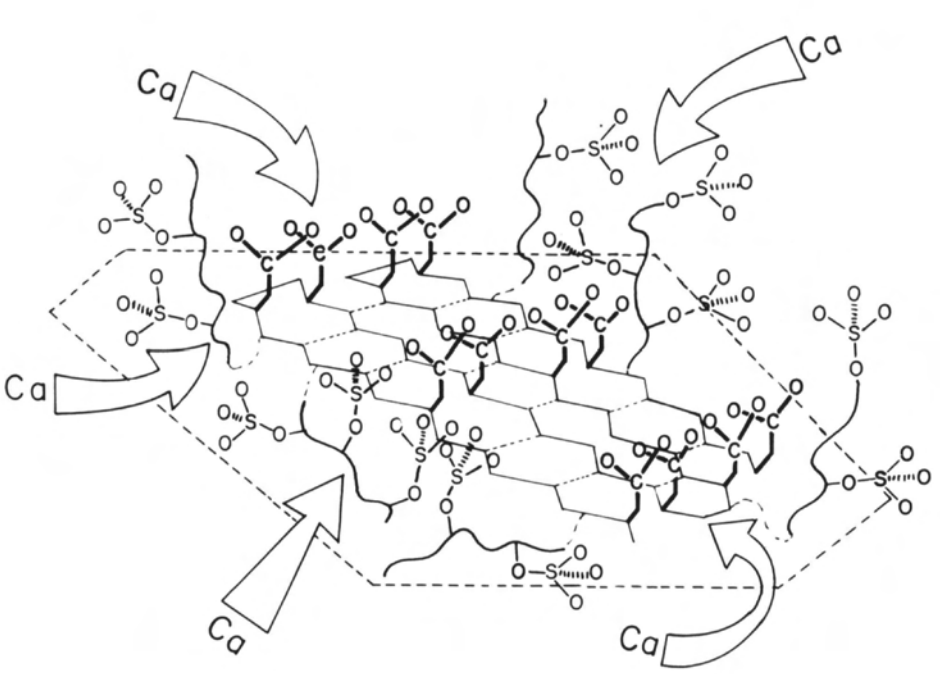

Abbildung 1.9.: Schematische Darstellung des Nukleationsbereichs eines sauren Glykoproteins, das auf einem starren Substrat adsorbiert wurde. Das Glykoprotein verfügt über Oligosaccharid-Seitenketten, an denen Sulfatgruppen angebunden sind, die Ca-Ionen auf eine carboxylatreiche β-Faltblattstruktur konzentrieren (aus [3]).

tallographische c-Achse senkrecht zur Schalenoberfläche orientiert ist und die kristallographischen a- und b-Achsen in einem Stapel gleichförmig ausgerichtet sind (vgl. Abb. 1.10). Es wurde angenommen, dass die räumliche Struktur der organischen Matrix der Schlüssel zur Kontrolle über das Mineral darstellt. Die Matrix besteht aus einer dünnen Schicht von β-Chitin, die zu beiden Seiten von Seidenfibroinen in einer β-Faltblattstruktur umgeben ist. Auf diesen Seidenfibroinen wiederum befinden sich saure Proteinstrukturen, die möglicherweise auch in einer β-Faltblattstruktur vorliegen (vgl. Abb. 1.10) [76]. Dieser Schichtaufbau, mit sauren Makromolekülen an der

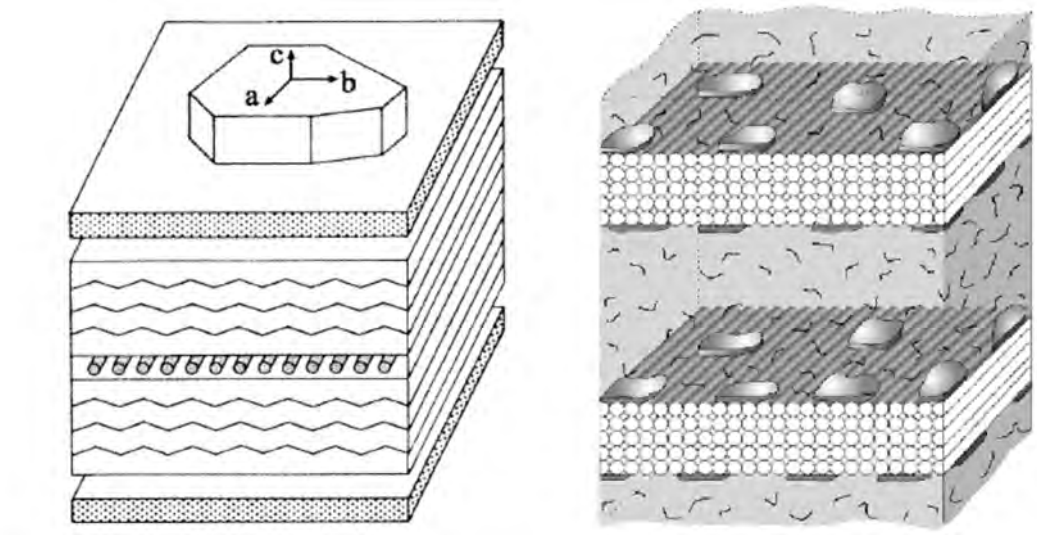

Abbildung 1.10.: Schematisches Diagramm zur Darstellung der Wechselwirkungen zwischen organischer Matrix und den kristallographischen Achsen des aufwachsenden Aragonitkristalls (links). Ein erweitertes Modell zur Wechselwirkung zwischen Kristall, organischer Matrix und gelösten Kristallisationsinhibitoren (rechts) [3].

Oberseite, sollte es ermöglichen, dass Ca-Ionen an den sauren Polypeptiden akkumuliert werden. Weiterhin wird angenommen, dass auf diese Weise eine Anordnung von Ca-Ionen erreicht wird, die der *ab*-Fläche im Kristall entspricht und so ein Wachstum in *c*-Richtung erzwingt. Auch in Muschelarten, die ungeordnete Stapel von Aragonitplättchen aufweisen, behält dieses Modell seine Gültigkeit, wenn man davon ausgeht, dass die zugrunde liegende Matrix in einer Art Mosaikstruktur organisiert ist [74]. Einmal an der Matrix entstandene Kristalle wachsen schnell in Richtung der *c*-Achse. Das Wachstum in dieser Richtung kommt jedoch zum Stillstand, wenn die Oberfläche der nächsten Matrixschicht erreicht wird und setzt sich dann nur noch lateral vor. Ein Phänomen, welches sich jedoch nicht durch dieses Modell erklären lässt, ist die Tatsache, dass alle Aragonit-Plättchen durch

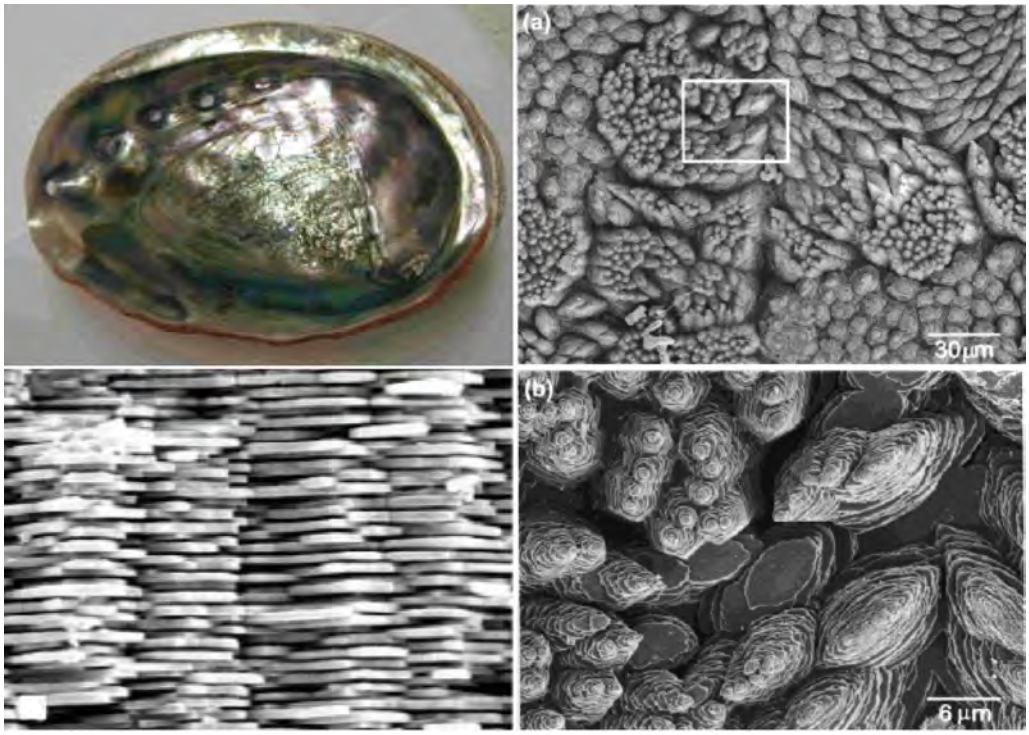

Abbildung 1.11.: Abbildungen von verschiedenen Bereichen der Perlmuttschicht einer Muschelschale. Deutlich ist die gestaffelte Anordnung der Aragonitplättchen zu erkennen. Es werden stapelförmige Superstrukturen gebildet, die über kristalline Brücken verknüpft sind (nicht gezeigt) und so der Schale ihre mechanische Belastbarkeit verleihen [3, 79].

mineralisierte Brücken mit einander verbunden sind [77]. Die Auswahl des Polymorphs (Aragonit) kann mit der Anwesenheit von gelösten Makromolekülen begründet werden, die spezifisch die Nukleation des stabileren Polymorphs (Calcit) unterdrücken [6, 78].

Zur Nachahmung der Templat-Kristall-Wechselwirkung haben vor allem SAMs (*self-assembling monolayers*) Verwendung gefunden. Aizenberg *et al.* haben verschieden funktionalisierte Monoschichten auf deren Effekt auf das Kristallwachstum von Calciumcarbonat untersucht. Dabei wurde unter anderem festgestellt, dass Carboxylat-, Sulfat-, Phosphat- und Hydroxygrup-

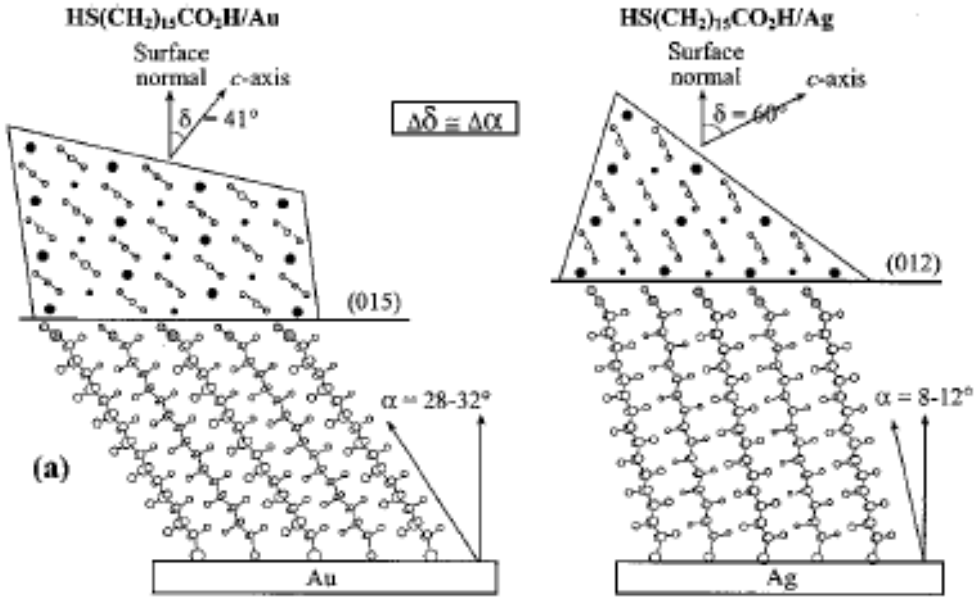

Abbildung 1.12.: Schematische Darstellung zur relativen Orientierung von SAMs und aufwachsenden Kristallen. ω-Carboxyalkylthiole werden auf Edelmetalloberflächen immobilisiert (Au oder Ag). Auf dem SAM ist jeweils der orientiert aufwachsende Calcitkristall abgebildet. Im beiden gezeigten Fällen stimmen die Positionen der Carboxylatgruppen im SAM sehr gut mit denen der Carbonatgruppen im Kristall überein [80]

pen das Kristallwachstum induzieren. Im Gegensatz dazu wurde gefunden, dass Methyl- oder Trimethylamin-terminierte Alkylthiole das Kristallwachstum inhibieren [80]. In einigen Fällen stimmt die geometrische Anordnung der funktionellen Gruppen auf der Templatoberfläche sehr gut mit der Anordnung der Ionen der entsprechenden Kristallfläche überein, so dass man hier von einer Epitaxiebeziehung sprechen kann (vgl. Abb. 1.12).

Im weiteren Verlauf wurde auch der Einfluss von Magnesium auf dieses System untersucht [81]. In Abhängigkeit vom Ca/Mg-Verhältnis fand man hochorientiertes Kristallwachstum von Calcit auf carboxylatterminierten SAMs. Auch dieses Ergebnis spricht für einen Templateffekt, der auf direkten Wechselwirkungen zwischen funktionellen Gruppen und aufwach-

sendem Kristall beruht.

1.5. Methoden zur Calciumcarbonatkristallisation

1.5.1. Kitano-Methode

Die Kitano-Methode basiert auf der Herstellung von übersättigter $CaCO_3$-Lösung [82].

$$CaCO_3 + CO_2 + H_2O \rightleftharpoons 2\ HCO_3^- + Ca^{2+}$$

Dabei wird das Gleichgewicht der Reaktion auf die rechte Seite verschoben, indem CO_2 für einige Stunden durch eine Calciumcarbonatsuspension geleitet wird. Wird die Begasung gestoppt, driftet das System langsam zurück in das Gleichgewicht, wobei CO_2 freigesetzt wird. Die erreichte Übersättigung an $CaCO_3$ ist hoch genug, um eine langsame Kristallisation zu induzieren. Doch ist es bei dieser Methode nicht möglich, die genaue Konzentration an $CaCO_3$ zu bestimmen, da es sich um einen diffusionskontrollierten Prozess handelt. Die Übersättigung des Systems ist an der Wasser/Luft-Grenzfläche am höchsten, was diese Technik insbesondere für die Kristallisation unter Langmuir-Monoschichten qualifiziert.

1.5.2. Diffusionsmethode

Eine sehr etablierte Methode zur Kristallisation von Calciumcarbonat stellt die Diffusionsmethode dar. Das Experiment basiert auf dem langsamen Eindiffundieren von CO_2 und NH_3 in eine $CaCl_2$-Lösung. In vielen Arbeiten wurde diese Methode verwendet, so beispielsweise von Addadi *et al.* [68, 83] und Aizenberg *et al.* [84]. Dabei wird auf den Boden eines geschlossenen Gefäßes (Exsikkator) $(NH_4)_2CO_3$ gegeben. Zudem stellt man in dieses Gefäß ein Becherglas mit einer $CaCl_2$ - Lösung. Das Ammoniumcarbonat dient nun als CO_2 - Quelle:

$$(NH_4)_2CO_3 \rightarrow CO_2 + 2NH_3 + H_2O$$
$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$$
$$H_2CO_3 \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$$
$$HCO_3^- \rightleftharpoons CO_3^{2-} + H^+$$
$$Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow CaCO_3$$

Eine Auffälligkeit bei dieser Methode ist die Veränderung des pH-Wertes. Da die Löslichkeit von NH_3 in Wasser sehr groß ist (auch im Vergleich zu CO_2) steigt der pH-Wert schnell an, was zu einer großen Übersättigung des Systems führt, denn die CO_3^{2-}-Konzentration ist vom pH-Wert abhängig. Der große Vorteil dieses System ist seine Einfachheit, weiterhin können beliebige Kristallisationsinhibitoren in das System eingebracht werden, sofern diese eine ausreichende Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln aufweisen. Weiterhin ist es möglich, beschichtete Oberflächen, wie SAMs, in der $CaCl_2$ - Lösung mit Kristallen bewachsen zu lassen. Diese beiden Ansätze lassen sich auch kombinieren. Doch dieses System stößt schnell an seine Grenzen, wenn man die Konzentrationsverläufe der beteiligten Reaktionspartner betrachtet. Der pH-Wert steigt, bis etwa zu einem Wert von 9.9 - 10.0 und fällt nach Erreichen dieses Maximums wieder leicht ab. Ca^{2+} wird aus dem Gleichgewicht entfernt und ebenso wie CO_3^{2-} zu $CaCO_{3(s)}$ verbraucht. Infolgedessen sinkt mit der Zeit auch die Inhibitorkonzentration von zugegebenen Makromolekülen.

1.5.3. Durchflussmethode

Bei dieser Methode, die auch in Kapitel 2.1 detailliert beschrieben wird, kommt ein anderes System zum Tragen. Man verwendet eine Druchflussanordnung, bei der durch eine Zelle ein gleichmäßiger Fluss von übersättigter $CaCO_3$ - Lösung strömt. Im Allgemeinen kann die Zelle derart konstruiert werden, dass Substratoberflächen in diese hineingelegt werden können oder dass diese selbst ein begrenzender Bestandteil der Zellwand sind. Das Kris-

tallwachstum findet dann an diesen Grenzflächen statt. Inhibitoren oder Wachstumsmodifikatoren werden von Beginn an der Kristallisationslösung beigefügt. Der Vorteil ist offensichtlich: Die Konzentration aller Reaktionspartner, sowie der pH-Wert bleiben während des gesamten Experimentes konstant. Daher findet hier eine Kristallisation fernab vom Gleichgewicht statt (*non-equilibrium*-Bedingungen).

1.5.4. Kristallisation unter Langmuir-Monoschichten

Die Kristallisation von Calciumcarbonat an selbst-organisierenden Oberflächen bietet gute Möglichkeiten, diese Wechselwirkungen im Detail zu studieren. Die Verwendung von SAMs (*self-assembling monolayers*) hat sich zwar bewährt [80, 85], jedoch bieten Langmuir-Monoschichten vielfältigere Einsatzmöglichkeiten. Es lässt sich hier gezielt der Einfluss von H-Brückensystemen in der Templatschicht [86, 87, 88], der Einfluss der Elektrostatik der Templatoberfläche [89, 90] und die Auswirkungen von geometrischer Übereinstimmung der Templatschicht mit dem aufwachsenden Kristall [80] untersuchen.
So wurde in unserer Arbeitsgruppe unter Langmuirschichten aus Calix[4]-arenen [91, 92] und Resorc[4]arenen [93] einheitlich {01.2}-orientierte Calcitrhomboeder erhalten. Dieses Ergebnis ist überraschend, da beide Molekülsorten unterschiedliche Strukturen aufweisen. Als Erklärung für dieses *(012)- Phänomen* wurden elektrostatische Effekte, Ladungsdichteverteilungen und Dipol-Wechselwirkungen in der Monoschicht angeführt. Um diese Annahmen zu untermauern, wurden zwei verschiedene Makrozyklen synthetisiert, die beide jeweils acht Carboxylatfunktionen beinhalten (vgl. Abb. 1.13), sich jedoch in der Ladungsdichteverteilung deutlich unterscheiden [94]. So erhielt man unter komprimierten Monoschichten von (1) bei erhöhtem Druck Aragonitkristalle ($\pi = 25 mN m^{-1}$). Dieses Verhalten wurden auch unter Monoschichten von 5-Hexadecyloxyisophthalsäure beobach-

tet [95]. Im Gegensatz dazu kristallisiert unter Monoschichten von (2) Calcit in der Form von Rhomboedern, die bei geringen Oberflächendrücken ($\pi = 0.2 - 0.5 mNm^{-1}$) eine {01.2} Vorzugsorientierung aufweisen. Bei höheren Drücken ($\pi = 0.5 - 25 mNm^{-1}$) bilden sich regellos orientierte Calcitrhomboeder. Betrachtet man in diesem Zusammenhang die Ladungsdichte in Form von Carboxylatgruppen pro nm^2, so wurde festgestellt, dass bei Carboxylatdichten von 4.65 - 5.00 COO^- nm^{-2} Aragonit verstärkt auftritt. Bei geringeren Dichten von 2.00 - 2.44 COO^- nm^{-2} scheinen {01.2}-orientierte Calcitrhomboeder die dominierende Spezies zu sein. Diese Ergebnisse deuten eher auf eine elektrostatische Beziehung zwischen Monoschicht und wachsendem Kristall hin, als auf einen direkten Templatmechanismus, wie er sich aus dem Templatmodell der Biomineralisation ergibt.

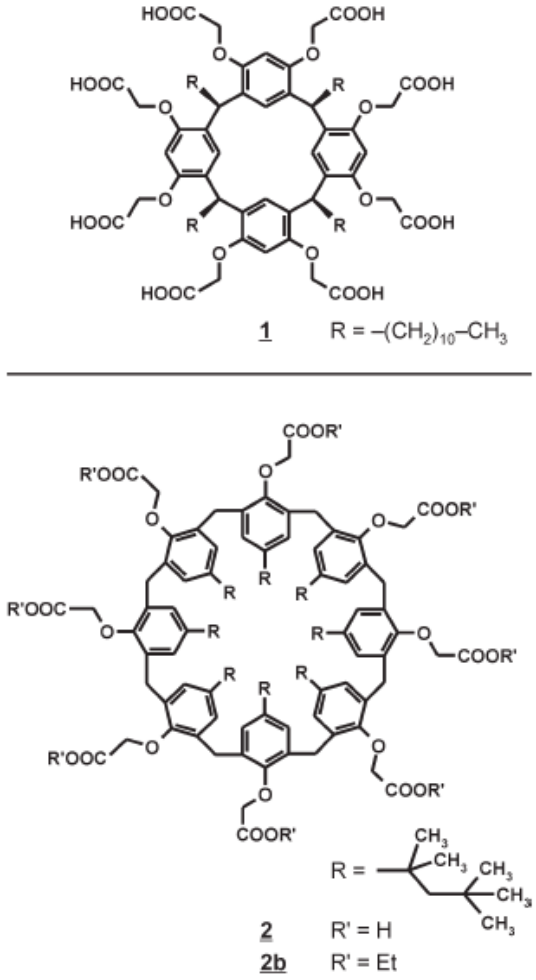

Abbildung 1.13.: Strukturformeln von *rccc*-4,6,10,12,16,18,22,24-octakis-O-(carboxymethyl)-2,8,14,20-tetra(n-undecyl)resorc[4]aren (1) und 5,11,17,23,29,35,41,47-octakis(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-49,50,51,52,53, 54,55,56-octa(carboxymethoxy)calix[8]aren (2) [94].

2. Materialien und Methoden

2.1. Experimenteller Aufbau der Durchflussanordnung

Der schematische Aufbau der Durchflusszelle ist in Abbildung (2.1) dargestellt. Das System besteht im Wesentlichen aus zwei Mikroinjektionspumpen, der Durchflusszelle und einer PC-gesteuerten optischen Videomikroskopie. Jeweils eine Mikroinjektionspumpe fördert eine der verwendeten Lösungen (Na_2CO_3- oder $CaCl_2$- Lösung) über Teflonschläuche in eine Mischkammer. Die dort vereinigten Lösungen werden über einen weiteren Teflonschlauch in die Durchflusszelle gepumpt. Am rückwärtigen Flüssigkeitsaustrittspunkt der Durchflusszelle befindet sich ein Kunststoffschlauch, der die austretende Flüssigkeit mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe absaugt (vgl. Abb. 2.2). Die Durchflusszelle kann zwecks Dokumentation der Kristallisation auf ein optisches Mikroskop aufgesetzt werden. Auf dem Mikroskop befindet sich eine CCD-Kamera, die mittels eines C-Mount-Verbindungsstücks im Strahlengang des Mikroskops liegt und mit der Grafikkarte eines PCs verbunden ist. Eine Bildfolge kann in zeitlichen Abständen von Δt (1 - ∞ s) per Softwaresteuerung aufgenommen werden. Mittels der Mikroinjektonspumpen ist es möglich einen Flüssigkeitsdurchfluss im Bereich von 0.1 bis 30 ml min^{-1} zu erzeugen. In allen nachfolgend beschriebenen Experimenten wurde jedoch ausschließlich in einem Durchflussbereich von 0.5 - 1.0 mL min^{-1} gearbeitet. Die Kristallisation in der Durchflusszelle ist durch zwei

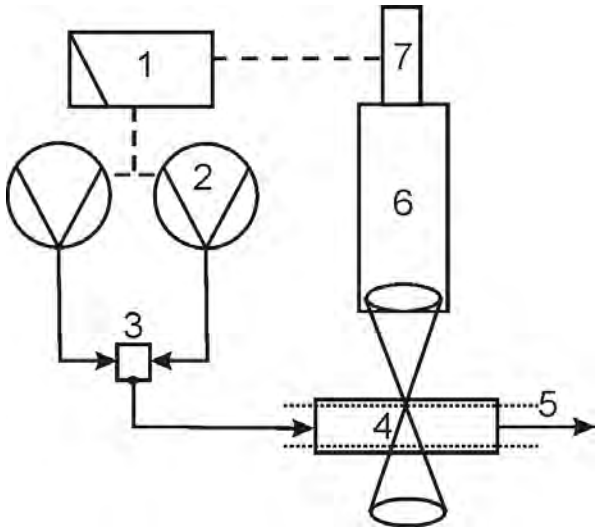

Abbildung 2.1.: Schematischer Aufbau der Durchflusszellenanordnung. Dabei bezeichnet: 1 Steuerungscomputer (PC), 2 Mikroperfusionspumpe, 3 Mischkammer, 4 Durchflusszelle, 5 Deckglas, 6 Optisches Mikroskop, 7 CCD-Kamera

Glasfenster beobachtbar. Bei den verwendeten Gläsern handelt es sich um runde Glasträger mit einem Durchmesser von 2.5 cm und einer Glasstärke von 0.13 - 0.16 mm. Die Kristallisation findet an diesen Oberflächen statt, nach Beendigung des Experiments können diese Gläser leicht entfernt und für Folgeexperimente genutzt werden. Technische Details zum Aufbau und weiterführende Informationen zu den verwendeten technischen Geräten sind dem Anhang 5 zu entnehmen.

2.2. Allgemeine Vorschrift zur Kristallisation von Calciumcarbonat in der Durchflusszelle

Es werden jeweils 10 mM Stammlösungen von $CaCl_2$ und Na_2CO_3 hergestellt. Bei einer Durchflussgeschwindigkeit von 0.5 bis 0.8 mL min^{-1} und

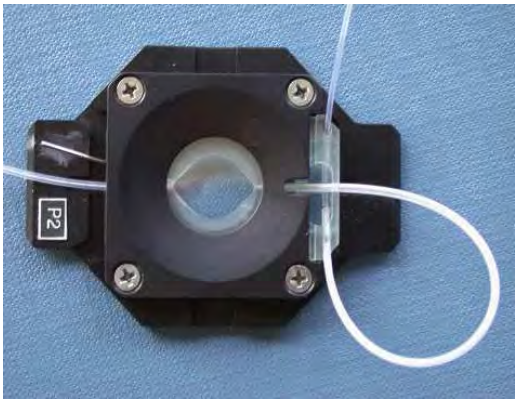

Abbildung 2.2.: Abbildung der Perfusionszelle. Durch den Teflonschlauch am linken Bildrand ist die Zelle mit der vorgeschalteten Mischkammer verbunden, d.h. von dort strömt Flüssigkeit in die Zelle hinein. Der Teflonschlauch an der rechten Bildseite dient dazu, die austretende Flüssigkeit mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe zu entfernen.

bei RT werden diese Lösungen in der Mischkammer vereinigt. Von dort gelangt die Lösung in die Durchflusszelle. An den Glasdeckgläsern im Inneren der Durchflusszelle findet die Kristallisation statt und kann mittels der angeschlossenen CCD-Kamera dokumentiert werden. Die verwendeten Glasdeckgläser (rund, ∅ 2.5 cm) werden vor Verwendung in der Durchflusszelle in eine Lösung von H_2SO_4 / H_2O_2 (1:3, 98%ig bzw. 30%ig) (nachfolgend als *Piranha-Lösung* bezeichnet) für 45 min eingelegt und anschließend mit reichlich H_2O gespült. Das interessierende Deckglas ist stets das obere, das untere Deckglas wird nach dem Experiment verworfen. Nach der Zeit Δt wird der Durchfluss unterbrochen, das Deckglas aus der Durchflusszelle entfernt, sodann mit Wasser gespült und an der Luft getrocknet. Derart präparierte Glasdeckgläser wurden für alle Arten von Messungen und Analysemethoden verwendet. Soll die Kristallisation von Calciumcarbonat in Gegenwart von löslichen Additiven erfolgen, so wird das entsprechende Additiv im Allgemeinen in der $CaCl_2$-Lösung gelöst.

2.2.1. Kristallisation von Calciumcarbonat in Gegenwart von Additiven

Die Kristallisation von Calciumcarbonat unter dem Einfluss von Additiven verläuft analog dem oben beschriebenen Verfahren. Die nachfolgende Tabelle (Tab. 2.1) gibt eine Übersicht über die verwendeten Additive. In der Regel kann das gewählte Additiv in der $CaCl_2$ - Lösung gelöst werden. Falls sich schwer lösliche Calciumsalze bilden, ist die Na_2CO_3 - Lösung vorzuziehen. Details zu den verwendeten Additiven können Tabelle 2.1 entnommen werden. Die erhaltenen Glasträger werden mit Hilfe von optischer Mikroskopie, SEM, AFM und XRD charakterisiert.

Tabelle 2.1.: Übersicht der verwendeten Additive zur Kristallisation von Calciumcarbonat in der Durchflusszelle. Die hier aufgelisteten Additive werden in der $CaCl_2$-Stammlösung gelöst.

Kurzbezeichnung	chem. Formel	M_W [g mol^{-1}]
Mg^{2+}	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	201.98
pAsp	Poly(asparaginsäure)-Na-Salz	$\sim$ 8300
pGlu	Poly(glutaminsäure)-Na-Salz	$\sim$ 2000 - 15000
PAA	Poly(acrylsäure)-Na-Salz	$\sim$ 2100

2.2.2. Kristallisation von Calciumcarbonat in Gegenwart von Magnesium-Ionen

Bei der Kristallisation in Gegenwart von Mg-Ionen wurden unterschiedliche Ca/Mg-Verhältnisse untersucht: Ca/Mg = 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3. Als Magnesiumquelle diente $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, welches der $CaCl_2$ - Lösung zugesetzt wird. Die Versuchsdauer beträgt in jedem Fall 1.0, 2.0 und 3.0 h. Die Durchflussgeschwindigkeit wird bei 0.75 ml min^{-1} konstant gehalten, die Kristallisation erfolgt bei RT. Die verwendeten Glassubstrate werden nach dem bereits erwähnten Standardverfahren mit Piranha-Lösung gereinigt. Nach Ende der Versuchsdauer werden die Glassubstrate mit Wasser gespült und an der Luft getrocknet.

2.2.3. Darstellung von perlmuttartig strukturiertem Calcit

Die Morphosynthese von perlmuttartig strukturiertem Calcit geschieht in drei Schritten. Zunächst wird eine dünne Schicht amorphen Calciumcarbonats abgeschieden. Dieser Film wird in einem weiteren Arbeitsschritt erhitzt und auf diese Weise eine Phasentransformation induziert. Den so erhaltenen Calcitdünnfilm verwendet man im letzten Schritt als Kristallisationstemplat, was zum Aufwuchs von perlmuttartig strukturiertem Calcit führt.

Darstellung von amorphen Calciumcarbonat Dünnfilmen

Zur Abscheidung eines amorphen Calciumcarbonatfilms wird jeweils eine 10 mM $CaCl_2$-und eine Na_2CO_3-Lösung verwendet. Als organisches Additiv findet Poly(Acrylsäure) (PAA) ($M_W \sim 2100$ g mol^{-1}) Verwendung, die Konzentration von PAA in der $CaCl_2$- Lösung beträgt 8 - 18 mg L^{-1}. Die Durchflussgeschwindigkeit kann in einem Bereich von 0.5 - 0.9 ml min^{-1} variiert werden, ohne dass dies einen sichtbaren Einfluss auf die Ausbildung von amorphen Schichten hat. Die Durchflusszeit beträgt mindestens 45 min.

Nachfolgend wird der Durchfluss unterbrochen, das Glassubstrat mit Wasser (Millipore, 18 $M\Omega$cm) gespült und an der Luft getrocknet. Der auf diese Weise erhaltene amorphe Dünnfilm ist über mehrere Tage bei RT und an der Luft stabil. Die Charakterisierung des Dünnfilms erfolgte durch SEM, IR und XRD.

Phasentransformation eines amorphen Calciumcarbonatfilms in einen Calcitdünnnfilm

Ein mit amorphem Calciumcarbonat beschichtetes Glassubstrat wird auf einer Heizplatte oder in einem Ofen für mindestens 2 h auf eine Temperatur von 400 - 450 ^{o}C erwärmt. Anschließend ist die Kristallisation des amorphen Vorläuferfilms abgeschlossen und man erhält einen polykristallinen Calcitdünnfilm. Dieser Phasentransfer benötigt keinerlei Art von Schutzgas, sondern kann unter Standardbedingungen durchgeführt werden. Der erhaltene kristalline Dünnfilm ist leicht irisierend und kann ohne weiteres für mehrere Wochen bei RT in einem staubgeschützten Gefäß gelagert werden. Dieser Dünnfilm wurde mit AFM, SEM, IR, optischer Polmikroskopie und Röntgenbeugungsmethoden charakterisiert.

Aufwuchs von perlmuttartig strukturiertem Calcit

Ein Glassubstrat, beschichtet mit einem polykristallinen Dünnfilm (vgl. Abschnitt 2.2.3) wird in die Durchflusszelle oberseitig eingespannt und als Templat für die nachfolgende Kristallisation von Calcit verwendet. Hierzu stellt man jeweils 10 mM $CaCl_2$- und Na_2CO_3-Lösung bereit, ein Additiv wird für diese Versuche nicht verwendet. Die Durchflusszeit beträgt zwischen 30 und 60 min, wobei die exakte Versuchsdauer vom jeweiligen Substrat abhängig ist. Der Fortschritt der Kristallisation muss mit Hilfe der optischen Mikroskopie verfolgt und zu gegebener Zeit abgebrochen werden. Nach Beendigung des Wachstums wird das Glassubstrat aus der Zelle entfernt, mit

Wasser gespült und an der Luft getrocknet. Der Calcitaufwuchs wurde mit optischer Mikroskopie, SEM und XRD charakterisiert.

2.2.4. Synthese von Calciumcarbonat-Ultrastrukturen

Der experimentelle Aufbau entspricht dem oben beschriebenen. Verwendet werden 10 mM $CaCl_2$- und Na_2CO_3- Lösungen, welche durch die Durchflusszelle geleitet werden. Die verwendeten Glasträger werden nach bereits beschriebenen Verfahren mit Piranha-Lösung gereinigt. Als organisches Additiv wird Nylon(6.6)[1] mit einer Konzentration von 0.42 mg mL^{-1} verwendet. Die Versuchsdauer beträgt bis zu 120 min. Proben wurden zwecks Charakterisierung durch AFM, SEM und XRD nach 1, 3, 5, 10, 15, 30, 60 und 120 min entnommen. Hierzu wurde das Experiment unterbrochen, die Proben mit H_2O und MeOH gespühlt und anschließend an der Luft getrocknet. Zu Begin des Experimentes (0-3 min) kann die Bildung eines Nylon(6.6)-Dünnfilms beobachtet werden (AFM). Auf diesem Nylon(6.6)-Film ist nach 3 - 5 min Versuchsdauer das Aufwachsen eines weiteren Films zu beobachten, der nachfolgend als *crystallization-inducing-thin film* (CIT) bezeichnet wird [2]. Nach etwa 5 min ist erstes Kristallwachstum zu beobachten. Ab diesem Zeitpunkt sind die interessierenden Objekte makroskopisch und werden SEM untersucht. Zur Feststellung des Polymorphs wurden an Proben, die bis zu 120 min in der Durchflusszelle verblieben sind, Röntgenbeugungsuntersuchungen und Raman-Mikroskopie durchgeführt.

[1] HOOC-$(CH_2)_4$-(CO)-NH-$(CH_2)_6$-NH-(CO)-$(CH_2)_4$-COOH [96]
[2] vgl. hierzu Kapitel 3.4.2

2.3. Verwendete Messverfahren

2.3.1. Einführung in die Röntgendiffraktometrie

Röntgenstrahlung ist elektromagnetische Strahlung mit einer Wellenlänge von etwa 1 $\mathring{A}$, was sie im elektromagnetischen Spektrum zwischen γ- und ultravioletter Strahlung einordnet. Die Entdeckung der Röntgenstrahlung im Jahr 1895 durch Wilhelm Conrad Röntgen ermöglicht die Strukturaufklärung bis in den atomaren Bereich. Durch die Röntgendiffraktometrie können feste Materialien charakterisiert werden und durch substanzspezifische Pulverdiagramme identifiziert werden. Treffen Röntgenstrahlen auf einen Kristall, so kann man beobachten, dass ein Teil den Kristall ungehindert durchdringt. Jedoch werden Strahlungsanteile zum Teil auch erheblich abgelenkt, was man als Röntgenbeugung bezeichnet. Ursache hierfür ist nach einer klassischen Vorstellung die Reflexion von Röntgenstrahlung an Schichten innerhalb des Kristalls (sogenannten Netz- oder Gitterebenen), die sich wie halbdurchlässige Spiegel verhalten. Eine Reflexion erfolgt nur dann, wenn die Bragg-Gleichnung erfüllt ist :

$$n\lambda = 2d \sin\theta \tag{2.1}$$

Wobei d: der Abstand zwischen zwei parallelen Gitterebenen, λ : Wellenlänge der Röntgenstrahlung, θ : Winkel zwischen einfallendem Röntgenstrahl und Gitterebene (Glanz- oder Braggwinkel), n : eine ganze Zahl.

Die Bragg-Gleichung ergibt sich aus der Forderung nach konstruktiver Interferenz. Jede Schar paralleler Gitterebenen hat einen charakteristischen Gitterebenenabstand d und damit auch einen charakteristischen Braggwinkel θ. Eine Reflexion kann nur dann beobachtet werden, wenn eine Schar paralleler Gitterebenen so orientiert ist, dass der Röntgenstrahl genau unter

dem Braggwinkel θ einfällt.

In der nachfolgenden Abbildung (vgl. Abb. 2.3) ist der Strahlengang schematisch dargestellt. Die blauen Linien entsprechen Wellenzügen, die auf parallele Gitterebenen treffen und dabei mit dem Lot den Winkel α einschließen. Der Komplementärwinkel $\theta = 90 - \alpha$ heisst Braggwinkel, d ist der Gitterebenenabstand. Der untere Wellenzug legt offensichtlich einen längeren Weg zurück als der obere Wellenzug. Dennoch darf sich durch die Reflexion die Phasenbeziehung zwischen unterem und oberem Wellenzug nicht ändern, andernfalls kommt es zu destruktiver Interferenz. Die Phasenbeziehung bleibt unverändert und es tritt konstruktive Interferenz auf, wenn die dunkelblau gekennzeichnete Wegdifferenz zwischen oberem und unterem Wellenzug (der Gangunterschied 2δ) einem ganzzahligen Vielfachen der Wellenlänge λ entspricht:

$$2\delta = n\lambda \tag{2.2}$$

Weiterhin geht aus den Winkelbeziehungen hervor, dass

$$\delta = d \sin\theta \tag{2.3}$$

Durch Einsetzten von 2.3 in 2.2 erhält man direkt die Bragg-Gleichnung.

Die Pulverdiffraktometrie ist eine Technik, die es ermöglicht die Orientierung einer kristallinen Probe (in Bezug auf das Substrat) zu bestimmen. Die Probe wird dabei unter einem Winkel θ mit Röntgenstrahlung abgerastert, wobei der Röntgendetektor in einem Winkel von 2θ zur Substratoberfläche steht. Die detektierten Signale erscheinen an substanzspezifischen Positionen auf der 2θ-Achse, entsprechend dem Braggschen Gesetz.

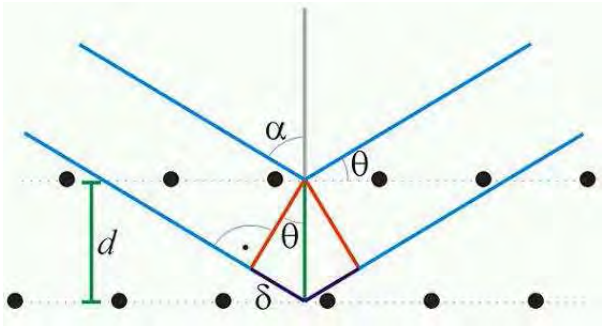

Abbildung 2.3.: Schematische Darstellung der Beugung und Reflexion eines Lichtstrahls an den Gitterebenen eines ionischen Festkörpers.

2.3.2. Kraftmikroskopie

Das Rasterkraftmikroskop (*atomic force microscope, AFM*) wurde 1986 von Gerd Binnig, Calvin Quate und Christop Gerber entwickelt [97]. Dabei handelt es sich im Prinzip um ein Mikroskop zur mechanischen Abtastung von Oberflächen durch eine an einer Feder befestigten Nadel (*Cantilever*). Dabei wird der Cantilver zeilenweise über die Oberfläche bewegt und die Ablenkung desselben durch optische Sensoren gemessen (vgl. Abb. 2.4. Der Krümmungsradius der Spitzen beträgt dabei typischerweise 10 - 20 nm, was je nach Rauhigkeit der Probenoberfläche laterale Auflösungen von 0.1 - 10 nm erlaubt. Die exakte Bewegung der Nadel über die Probenoberfläche gelingt mit Hilfe von Piezostellelementen, die Scanbereiche von bis zu 100 x 100 μm ermöglichen. Man unterscheidet grundsätzlich zwei bildgebende Messverfahren: den Kontakt- und den Nicht-Kontakt-Modus (*contact* und *non-contact mode*). Im Kontakt-Modus steht die Messspitze in direktem mechanischen Kontakt zur Probenoberfläche, was zu sehr starken Abstoßungskräften führt. Im Nicht-Kontakt Modus wird die Spitze durch eine externe Kraft zu periodischen Schwingungen angeregt, wobei die gewählte Schwingungsfrequenz etwas oberhalb der Resonanzfrequenz der Feder liegt. Nähert

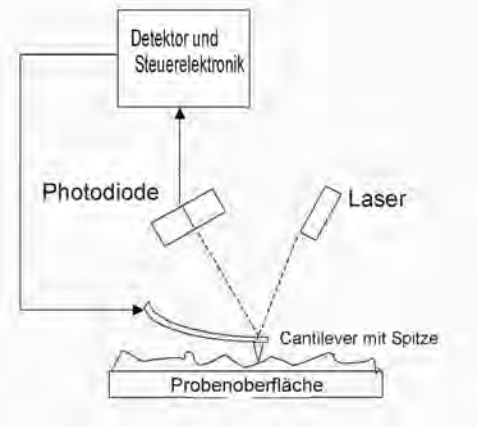

Abbildung 2.4.: Schematische Darstellung zum Aufbau eines Kraftmikroskops. Der Cantilever wird über die Probenoberfläche geführt und dessen Ablenkung mittels eines Lasers detektiert.

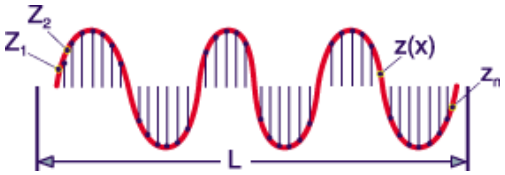

Abbildung 2.5.: Das Oberflächenrauhigkeitsprofil z(x) kann vereinfacht als gleitender Durchschnitt der Zahlenwerte $(Z_1, Z_2, ..., Z_n)$ dargestellt werden.

sich die Feder nun der Oberfläche an, so wird die Schwingung des Systems aufgrund von Wechselwirkungen mit der Probenoberfläche gedämpft (van-der-Waals-Wechselwirkungen) und somit Amplitude und Frequenz reduziert. Das Kraftmikroskop liefert viele wichtige Informationen über die zu charakterisierende Oberfläche. Insbesondere die Standardabweichung der z-Werte ist ein Maß für die Rauhigkeit der Probe (vgl. Abb 2.5), der sogenannte RMS-Wert (*root mean-square roughness*)[3]:

[3]Der RMS-Wert ist ein allgemein akzeptiertes Maß für die Charakterisierung der Oberflächenrauhigkeit

$$R_q = \sqrt{\frac{1}{L}\int_0^L z^2(x)dx} \tag{2.4}$$

Normalerweise findet jedoch die Beziehung (2.5) Verwendung:

$$R_q = \sqrt{\frac{1}{N}\sum_{n=1}^{N} z_n^2} \tag{2.5}$$

Maganov *et al.* entwarfen ein Modell wie die Phasenverschiebung der Spitzenoszillation mit der Probensteifigkeit zusammen hängt [98]. Im Folgenden wird dieses Modell erklärt: Ein frei schwingender Cantilever wird durch die Federkonstante k, die Masse m und den Qualitätsfaktor Q charakterisiert. Seine Resonanzfrequenz ω_0 hängt gemäß $k = m\omega_0^2$ mit der Federkonstante zusammen. In erster Näherung, kommt es auf Grund der Spitzen-Probe-Wechselwirkung zu einer Veränderung der ursprünglichen Federkonstanten k. Die neue effektive Federkonstante ergibt sich dann zu:

$$k_{eff} = k + \sigma \tag{2.6}$$

wobei σ als die Summe aller Ableitungen der Kraft F in z-Richtung gemäß

$$\sigma = \sum_i \frac{\partial F_i}{\partial z} \tag{2.7}$$

mit dem relativen Spitzen-Proben-Abstand z zu verstehen ist. Der Phasenwinkel ϕ eines frei oszillierenden Cantilevers kann als Funktion seiner Schwingungsfrequenz ω ausgedrückt werden:

$$\phi = \tan^{-1}\left(\frac{m\omega\omega_0}{Q(k - m\omega^2)}\right) \tag{2.8}$$

Tritt der Cantilever nun mit der Probe in Wechselwirkung, so ergibt sich für die Phasenverschiebung (2.8) mit der effektiven Federkonstanten (2.6)

und sehr kleinen Werten für σ im Vergleich mit k:

$$\phi = \tan^{-1}\left(\frac{m\omega\omega_0}{Q(k+\sigma-m\omega^2)}\right) \tag{2.9}$$

Somit ergibt sich für den Phasenwinkel ϕ_0 um ω_0:

$$\phi = tan^{-1}\left(\frac{k}{Q\sigma}\right) \tag{2.10}$$

Die Verschiebung des Phasenwinkels $\Delta\phi_0$ (im Folgenden kurz *Phasenshift* genannt) eines oszillierenden und wechselwirkenden Cantilevers wird definiert als:

$$\Delta\phi_0 = \frac{\pi}{2} - tab^{-1}\left(\frac{k}{Q\sigma}\right) \approx \frac{Q\sigma}{k} \tag{2.11}$$

Mit Hilfe der Hertz-Theorie [99] kann nun die elastische Deformation abgeschätzt werden. Eine sphärische Spitze mit dem Radius R, die bei einer bestimmten Kraft F, mit der Probe in Kontakt tritt, führt zu einer Kontaktfläche A mit dem Radius a und der Eindringtiefe d. Die Oberflächensteifigkeit S kann nach (2.12) berechnet werden.

$$S = \frac{\partial F}{\partial d} = \varepsilon\alpha E^* \tag{2.12}$$

ε ist hierbei eine Zahl zwischen 1,9 und 2,4 und E^* ist das effektive Modul für welches gilt [100]:

$$\frac{1}{E^*} = \frac{(1-\nu_1^2)}{E_1} + \frac{(1-\nu_2^2)}{E_2} \tag{2.13}$$

E_1 und E_2 sind die Young-Module und ν_1 und ν_2 die Poisson-Verhältnisse der Spitze und der Probe. Tritt die Spitze nun mit der Probe in Kontakt, so wird die Kraftveränderliche σ durch die Proben-Steifigkeit S dominiert und es gilt: $\sigma \approx \langle S\rangle = \varepsilon\langle\alpha\rangle E^*$. Somit erhält man eine Beziehung zwischen

der Steifigkeit der Probe und dem Phasenshift:

$$\Delta\phi_0 = \langle S\rangle \frac{Q}{k} = \varepsilon\langle\alpha\rangle E^* \left(\frac{Q}{k}\right) \tag{2.14}$$

Da im Nicht-Kontakt-Modus die Spitze-Probe-Kontaktfläche mit der Zeit variiert, wurde in (2.14) mit zeitlich gemittelten Größen gerechnet. Die Beziehung zeigt, dass im Phasenbild steifere Regionen, die ein größeres Elastizitätsmodul E* besitzen, einen höheren positiven Phasenshift aufweisen und somit im Phasenbild heller erscheinen.

2.3.3. Optische Methoden, Polscope-Mikroskopie

Das LC-Polscopesystem liefert Phasenverschiebungsbilder hoher Auflösung. Ein großer Vorteil dieser Methode ist, dass Helligkeit und Kontrast unabhängig von Polarisator oder Messprobe reguliert werden können. Grundlage dafür ist eine spezielle Methode zur Kontrasterhöhung unter Verwendung eines steuerbaren Flüssigkristallpolarisationsfilters. Aufgenommene Bilder können als Bilddateien auf einem PC gespeichert werden und mittels Softwarewerkzeugen ist es möglich, die Orientierung, z.B. von Kristallen zu bestimmen. Dazu werden Doppelbrechung und Orientierung der Polarisation nach Lichtdurchgang durch die Probe für jeden Bildpunkt berechnet.

Dieses System eignet sich hervorragend, dünnkristalline Schichten bestehend aus Calcit zu untersuchen und zu charakterisieren. Verwendung findet ein invertiertes Mikroskop (Olympus IX70), die Arbeitswellenlänge beträgt 546.3 nm. Schlüsselkomponente des Systems ist ein Flüssigkristallretarder, der PC-gesteuert arbeitet.

Die Phasenverschiebung ergibt sich wie folgt: In einem uniaxialen Kristallsystem ist der Winkel σ gegeben durch die optische Achse des Kristallsystems und der Ausbreitungsrichtung des einstrahlenden Lichtes (vgl. Abb.

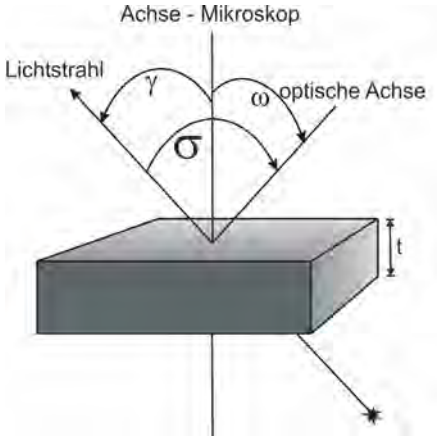

Abbildung 2.6.: Durchtritt eines Lichtstrahls durch einen Calcitkristall. Dabei ist t : Dicke des Kristalls; σ: Winkel zwischen dem durchtretendem Lichtstrahl und der optischen Achse des Kristalls; λ: Winkel zwischen dem durchtretendem Lichtstrahl und der optischen Achse des Mikroskops; ω: Winkel zwischen optischer Achse des Kristalls und optischer Achse des Mikroskops

2.6). Ausgehend von Fresnels Gleichungen über die Ausbreitung von Licht in Kristallen [4] und unter der Vereinfachung, dass in optisch uniaxialen Kristallen mit der optischen Achse in z-Richtung $v_x = v_y$ ist, ergibt sich durch Umformung

$$(v_p^2 - v_0^2)[(s_x^2 + s_y^2)(v_p^2 - v_e^2) + s_z^2(v_p^2 - v_0^2)] = 0, \tag{2.15}$$

wobei v_e anstelle von v_z und v_0 anstelle von v_y geschrieben wird[5]. Es sei nun σ der Winkel zwischen der Wellennormalen s und der z-Achse. Dann ergibt sich

[4] $\frac{s_x^2}{v_p^2 - v_x^2} + \frac{s_y^2}{v_p^2 - v_y^2} + \frac{s_x^2}{v_p^2 - v_p^2 - v_z^2} = 0$

[5] Die Suffixe o und e stehen dabei für den ordentlichen und ausserordentlichen Lichtstrahl

$$s_x^2 + s_y^2 = sin^2\sigma, \qquad s_z^2 = cos^2\sigma \tag{2.16}$$

und (2.15) wird zu

$$(\upsilon_p^2 - \upsilon_0^2)[(\upsilon_p^2 - \upsilon_0^2)sin^2\sigma + (\upsilon_p^2 - \upsilon_0^2)cos^2\sigma] = 0 \tag{2.17}$$

Berechnet man die Quadratwurzel ($\upsilon_p^{'}$ und $\upsilon_p^{''}$) von (2.17) so ergeben sich als Lösungen

$$\upsilon_p^{'2} = \upsilon_0^2 \text{ und } \upsilon_p^{''2} = \upsilon_0^2 cos^2\sigma + \upsilon_e^2 sin^2\sigma \tag{2.18}$$

Hieraus folgt dann direkt

$$\upsilon_p^{'2} - \upsilon_p^{''2} = (\upsilon_0^2 - \upsilon_e^2)sin^2\sigma \tag{2.19}$$

Da gilt $\upsilon_p = c/n$ folgt aus (2.19)

$$\frac{1}{n'^2} - \frac{1}{n''^2} = \Big(\frac{1}{n_0^2} - \frac{1}{n_e^2}\Big) \tag{2.20}$$

Da die Differenz der Brechungsindices gewöhnlich klein im Vergleich zu ihren Werten ist, kann (2.20) angenähert geschrieben werden als

$$n^{''} - n^{'} = (n_e - n_0)sin^2\sigma \tag{2.21}$$

Da für die Phasendifferenz gilt

$$\delta = \frac{2\pi h}{\lambda cos\theta_2}(n^{''} - n^{'}) \tag{2.22}$$

wobei $h/cos\theta_2$ die Weglänge eines Lichtstrahls durch eine Kristallplatte

der Dicke h beschreibt. Daher kann man schreiben

$$t = \frac{h}{cos\theta_2} \tag{2.23}$$

Durch Zusammenführen von (2.21 bis 2.23) erhält man

$$\delta = \frac{t2\pi}{\lambda}(n_e - n_0)sin^2\sigma \tag{2.24}$$

Wie von Oldenbourgh *et al.* beschrieben, kann der Faktor $2\pi/\lambda$ vernachlässigt werden und man erhält abschließend [101]:

$$\delta = t(n_e - n_0)sin^2\sigma \tag{2.25}$$

wobei t die Schichtdicke in nm und $(n_e - n_0)$ der Brechungsindex von Calcit ist und -0.172 beträgt. In (2.25) kann man nun direkt die ermittelten *retardance*-Werte und die zuvor bestimmte Schichtdicke einsetzen.

2.3.4. IR-Spektroskopie

Die IR-Spektroskopie ist für die Polymorphbestimmung eine wichtige Methode. Die erhaltenen IR-Banden lassen sich relativ genau zuordnen. Andersen *et al.* haben in ihren Arbeiten die drei wasserfreien Polymorphe des Calcits, sowie amorphes Calciumcarbonat mit Hilfe der IR-Spektroskopie detailliert charakterisiert [102]. Das freie Carbonation gehört zur Punktgruppe D_{3h} und demzufolge existieren vier Normalschwingungen (eine A_1', eine A_2'' und zwei E'). Diese Schwingungen sind im einzelnen: ν_1, symmetrische C-O-Streckschwingung; ν_2, CO_3-*out-of-plane*-Deformationsschwingung; ν_3, asymmetrische C-O-Streckschwingung und ν_4, OCO-Biegeschwingung (*in-plane*-Deformationsschwingung).

IR-Spektroskopie von amorphem Calciumcarbonat

In der amorphen Phase erwartet man, dass alle vier Schwingungsmodi IR-aktiv sind. Man beobachtet Absorptionsbanden in den Regionen 1500-1400, 1100-1000, 900-800 und bei 700 cm^{-1}. Gleiches gilt für die kristallinen Polymorphe. Die beiden breiten Banden bei 1067 und 864 cm^{-1} werden den ν_1 - und ν_2 - Schwingungen zugeordnet. Die starke Absorption bei 1500-1400 cm^{-1} und die sehr schwache Bande bei 700 cm^{-1} entsprechen den ν_3 - und ν_4 - Schwingungen. Auffällig ist, dass die ν_3 - und ν_4 - Schwingungen geteilt sind und beide als Dublett auftreten (ν_{3a}, ν_{3b} und ν_{4a}, ν_{4b}). Die beiden ν_4-Schwingungen sind jedoch sehr schwach und meist kaum zu beobachten. Da ACC in der Regel Anteile von Wasser enthält kann man auch die antisymmetrischen und symmetrischen OH-Streckschwingungen bei 3375 und 3230 cm^{-1} beobachten. Zusätzlich tritt auch die HOH-Biegeschwingung bei 1640 cm^{-1} in Erscheinung.

IR-Spektroskopie von kristallinen Polymorphen

Für die kristallinen Polymorphe gelten andere Auswahlregeln, als es für die amorphe Calciumcarbonatphase der Fall ist. Die Symmetrie des Carbonat-Ions ist im Calcit D_3, für Aragonit und Vaterit C_s. Im Aragonit teilt sich die ν_4-Schwingung und erscheint als gut zu beobachtendes Dublett bei 700 und 713 cm^{-1}. Beim Vaterit erkennt man ein ähnliches Verhalten, jedoch nur bei Tieftemperaturmessungen. Bei RT ist beim Vaterit an dieser Stelle nur eine Schulter auszumachen. Im Calcit verschwindet das Dublett völlig und man findet stattdessen eine scharfe Bande bei 713 cm^{-1}. Weiterhin tritt in den kristallinen Phasen die ν_3 - Schwingung nicht mehr als Dublett, sondern nur noch als breite Bande in Erscheinung. Die ν_2 - Schwingung erscheint hier schärfer als es im ACC der Fall ist. Tabelle (2.2) gibt einen Überblick über die beobachteten Absorptionen.

Tabelle 2.2.: Bandenfrequenzen (in cm^{-1}) für das Carbonatanion in amorpher und kristalliner Umgebung. die gezeigten Daten stammen aus [102].

Bande	ACC	Vaterit	Aragonit	Calcit
ν_1	1067	1088	1084	–
ν_2	864	874	854	877
ν_3	1490(a), 1425(b)	1487(a), 1445(b)	1488(a), 1440(b)	1420
ν_4	725(a), 690(b)	746(a), 738(b)	713(a), 700(b)	713

2.4. Texturuntersuchungen

Die erste Definition des heute verwendeten Begriffs der Textur geht auf Wassermann [103] zurück und besagt, dass die Gesamtheit der Orientierungen der Kristalle eines vielkristallinen Stückes als Textur zu bezeichnen ist. Die Textur eines Kristalls lässt sich teilweise schon mit bloßem Auge erkennen. Zum Beispiel besteht Schiefer aus parallel angeordneten, blättrigen Mineralen, so dass sich dünnste Platten aus dem Gestein lösen lassen.

Der Texturbestimmung mit dem bloßem Auge folgte bald die mit dem Mikroskop, wobei viele Kristallite eines Dünnschliffes bezüglich ihrer Orientierung und Größe im Gestein einzeln ausgemessen wurden. So ermittelte Richtungsverteilungen (Polfiguren) kristallographischer c-Achsen bildeten den Ausgangspunkt zur Klassifizierung der in natürlich deformierten Quarziten auftretenden Texturtypen [104]. Diese U(niversal)-Tisch Methode wird in den Geowissenschaften auch heute noch zur Texturbestimmung eingesetzt.

Die eigentliche Texturforschung begann nach der Laueschen Entdeckung der Röntgenstrahlinterferenzen in Kristallen im Jahr 1912. Die sich an einem Einkristall ergebenden Beugungsbilder sind durch helle scharfe Punkte charakterisiert. Verwaschene Maxima in den Beugungsbildern von Metallfolien [105] konnten durch P. Knipping als Vorzugsorientierungen der Metallkristallite gedeutet werden [106]. Wever und Schmid schlugen im Jahr 1927 ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Polfiguren vor [107].

Polfiguren sind richtungsabhängige Funktionen P(y), die den Volumenanteil aller Kristallite beschreiben, deren Netzebenen $\{hkl\}$ senkrecht zur Probenrichtung y angeordnet sind. Röntgenstrahlen lassen sich wegen ihrer geringen Eindringtiefe (ca. 0.1 mm) für Texturuntersuchungen besonders feinkörniger Substanzen verwenden, so dass bis in die siebziger Jahre vorrangig Metalle untersucht wurden. Mit dem Ziel, Texturaussagen auch über extrem kleine Volumenbereiche (dünne Schichten) zu treffen, wurden ne-

ben der Röntgenstrahlung bald auch Elektronen zur Polfigurbestimmung herangezogen [108].

Mit der Vervollkommnung der Experimentiertechnik und der zunehmenden Anwendbarkeit texturanalytischer Ergebnisse zeigte sich aber, dass Polfiguren die Textur nur unvollständig beschreiben. Eine neue Etappe der Texturanalyse wurde von Wiglin, Bunge und Roe eingeleitet, die den Begriff der Orientierungsverteilungsfunktion (auch Orientierungsdichtefunktion - ODF) einführten [109] und, ausgehend von den im Diffraktionsexperiment messbaren Polfiguren, eine Methode zu ihrer Bestimmung entwickelten [110, 111] Damit wurden wesentliche Voraussetzungen für die quantitative Beschreibung texturmodifizierender Prozesse in polykristallinen Materialien geschaffen. Seit den siebziger Jahren erfuhr der Untersuchungsgegenstand der Texturforschung eine grundlegende Erweiterung. Waren es bis dahin vor allem Metalle, die untersucht wurden, so werden heute gleichermaßen Texturbestimmungen an natürlichen und künstlichen Gesteinen, an Polymeren oder anderen neuartigen Werkstoffen (Fullerene, HT-Supraleiter) durchgeführt. Bei der ODF-Bestimmung nichtmetallischer Materialien treten jedoch zusätzliche Probleme, wie Mehrphasigkeit, niedrige Kristallsymmetrien, inhomogener Probenaufbau oder ein breites Korngrößen- bzw. Kornformspektrum auf, die sowohl die experimentelle als auch die mathematisch/methodische Bestimmbarkeit der Texturen unmittelbar beeinträchtigen. Deshalb wurden neue Experimentiertechniken und ODF-Berechnungsmethoden entwickelt [112, 113].

2.4.1. Textur und Anisotropie kristalliner Stoffe

Ein Kristall ist dadurch gekennzeichnet, dass seine Bausteine räumlich periodisch angeordnet sind. Daraus folgt grundsätzlich eine Richtungsabhängigkeit (Anisotropie) der Kristalleigenschaften. Die meisten natürlichen oder künstlichen Feststoffe bestehen aus vielen Kristalliten unterschiedlicher

Größe und Form, die verschieden orientiert aneinander stoßen. Der wichtigste Parameter zur Beschreibung polykristalliner Werkstoffe ist die Textur. Eine geregelte Textur, bei der die Kristallite einer Phase wenige Vorzugsorientierungen innehaben, bewirkt durch die über die Gitterstruktur der Kristallite bedingte Anisotropie der physikalischer Eigenschaften eine solche auch für das polykristalline Material. Haben alle Kristallite die gleiche Orientierung, so entspricht die Anisotropie des Vielkristalls exakt der des Einkristalls. Im Falle einer regellosen Textur, bei der alle Orientierungen gleich häufig vorhanden sind, ist das Verhalten des polykristallinen Materials isotrop.
Zur Orientierungsbeschreibung eines Kristallits müssen sowohl an der Probe als auch am Kristalliten kartesische Rechtskoordinaten fixiert werden (vgl. Abb. 3.13), wobei zwecks Vergleichbarkeit verschiedener Texturen für das Anbringen der Koordinatensysteme einheitliche Konventionen gelten sollten.

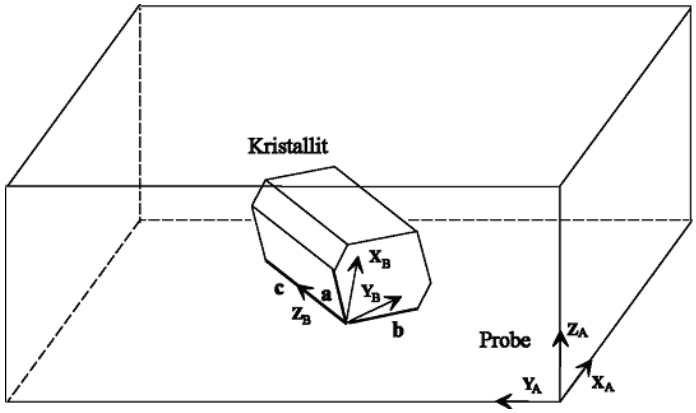

Abbildung 2.7.: Darstellung der verschiedenen Koordinatensysteme zur Orientierungsbeschreibung. Das Probenkoordinatensystem trägt die Bezeichnung K_a, das Kristallkoordinatensysten die Bezeichnung K_b. a, b, c bilden die Basisvektoren des Bravisgitters.

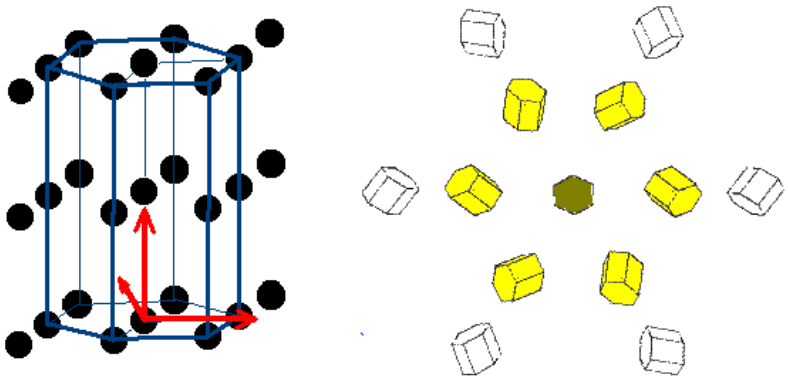

Abbildung 2.8.: Bedingt durch die Probensymmetrie existieren verschiedene Kristallite mit anschaulich verschiedenen, hinsichtlich der Probensymmetrie jedoch äquivalenten Orientierungen [114].

2.4.2. Kristall- und Probensysmmetrie

Kristall- und Probensymmetrie führen dazu, dass für die Festlegung des kristall- bzw. probenfesten Koordinatensystems mehrere äquivalente Möglichkeiten existieren. Anschaulich bewirkt die Kristallsymmetrie keine Vervielfältigung des Kristallits, da durch die Symmetrieoperationen das Kristallgitter auf sich selbst abgebildet wird. Dagegen bewirkt eine Probensymmetrie die Existenz mehrerer Kristallite mit anschaulich verschiedenen, hinsichtlich der Probensymmetrie aber äquivalenten Orientierungen.

In der Abbildung 2.8 sind diese für drei verschiedene Orientierungen mit jeweils gleicher Farbe dargestellt. Die Probensymmetrie ist hier durch die Punktgruppe C_6 gegeben. Verursacht wird eine Probensymmterie durch den texurmodifizierenden Prozess bzw. durch die Umgebung der kristallinen Phase. Das Beispiel zeigt 13 Vorzugsorientierungen eines dünnen Films (Kristallsymmetrie D_{6h}), welcher auf einem ebenfalls hexagonalen, einkristallinen Substrat erzeugt wurde. Da die c-Achse des Substratkristalls parallel zur Probennormalen ist, gibt es zu jeder Vorzugsorientierung noch fünf

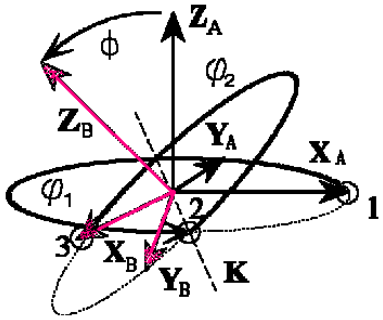

Abbildung 2.9.: Orientierungsdarstellung durch sphärische Winkel. Das probenfeste Koordinatensystem K_A wird durch Drehung in das kristallfeste Koordinatensystem K_B überführt.

weitere äquivalente Vorzugsorientierungen. In Sonderfällen, d.h. für spezielle Orientierungen, können die äquivalenten Orientierungen auch zusammenfallen.

2.4.3. Orientierungsdarstellung durch Eulerwinkel

Eine Orientierung g ist durch diejenige Drehung beschrieben, die das probenfeste Koordinatensystem K_A in das kristallfeste System K_B des jeweiligen Kristalliten überführt.

Wird die Drehung dabei in drei sukzessiv auszuführende Teildrehungen (K-Knotenlinie) zerlegt

1. überführt $X_A \Rightarrow K$, Drehachse: $Z(Z_A)$, Drehwinkel: φ_1.

2. überführt $Z_A \Rightarrow Z_B$, Drehachse : K, Drehwinkel Φ.

3. überführt $K \Rightarrow X_B$, Drehachse: $Z(Z_B)$, Drehwinkel : φ_2

erhält man die Eulerwinkel $(\varphi_1, \Phi, \varphi_2) = g$ als Orientierungsparameter. Jede Drehung mit dem Drehwinkel $2\pi + \alpha$ um eine beliebige Drehachse ist

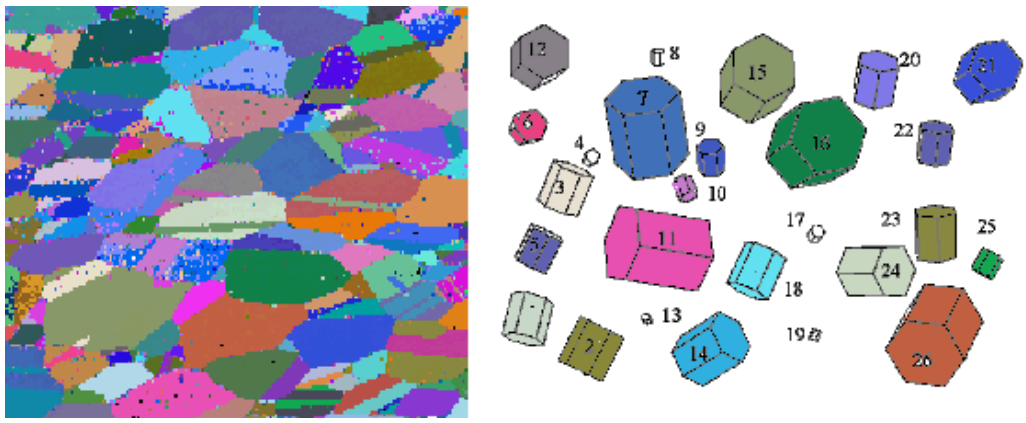

Abbildung 2.10.: Schematische Darstellung zur quantitativen Beschreibung einer kristallinen Phase. Dargestellt sind sämtliche Kristallite einer Probe entsprechend ihrer Orientierung [114].

identisch mit einer Drehung mit α. Der Raum aller Orientierungen (kurz G-Raum) ist somit zyklisch, abgeschlossen und durch

$$0 \leq \varphi_1 \leq 2\pi, 0 \leq \Phi \leq \pi, 0 \leq \varphi_2 \leq 2\pi \tag{2.26}$$

vollständig beschrieben (vgl. Abb. 2.9).

2.4.4. Die Orientierungsdichtefunktion (ODF)

Mit Hilfe der ODF f(g) wird die Textur einer kristallinen Phase quantitativ beschrieben. In einem Gedankenexperiment seien sämtliche Kristallite einer Probe entsprechend ihrer Orientierung in einen Setzkasten einsortiert (vgl. Abb. 2.10).

Die Häufigkeit (der Volumenanteil) aller Kristallite mit einer Orientierung g in dg (dg charakterisiert die Größe eines Kästchens) ist hier durch eine entsprechend große Elementarzelle des (im Beispiel hexagonalen) Kristallgitters dargestellt. Beim Grenzübergang $dg \Rightarrow 0$ geht die Häufigkeit in

den Funktionswert f(g) über, so dass die ODF f(g) durch die Beziehung

$$f(g)dg = \frac{dV_g}{V} \geq 0 \tag{2.27}$$

definiert ist. Dabei beschreibt V das Probenvolumen und dVg das Volumen aller Kristallite, die eine Orientierung g innerhalb des Winkelelements dg besitzen. Üblich ist die graphische Darstellung der ODF auf Eulerschnitten. Dabei werden die Eulerwinkel $\varphi_1, \phi, \varphi_2$ auf rechtwinkligen Koordinatenachsen aufgetragen, wodurch der sphärische G-Raum erheblich verzerrt wird. Aufgrund der im Beispiel vorhandenen Kristall- und Probensymmetrie (kubisch/tetragonal bzw. orthorhombisch) kann die Darstellung in einem reduzierten Grundbereich $0 \leq \varphi_1, \phi, \varphi_2 \leq \frac{\pi}{2}$ erfolgen.

2.4.5. Polfiguren

Bis in die sechziger Jahre erfolgten Texturaussagen praktisch nur anhand von Polfiguren und daran abgeschätzter Vorzugsorientierungen (Ideallagen). Heute liegt ihre Bedeutung darin begründet, dass diese Polfiguren experimentell leicht zugänglich sind. Eine wichtige Aufgabe der Texturanalyse besteht deshalb darin, aus den gemessenen Polfiguren die ODF jeder Phase einer Probe zu berechnen. Eine Polfigur ist durch die Beziehung

$$P_h(y)dy = \frac{dV_{h|v}}{V} \geq 0 \tag{2.28}$$

definiert, d.h. sie ist proportional zum Volumenanteil aller Kristallite, deren Kristallrichtung h parallel dem Probenvektor y ist. Bei der Messung beschreibt y die Richtung vom Streuvektor des Diffraktometers relativ zum Probenkoordinatensystem. Durch geeignete Probendrehung kann y den gesamten Raumwinkelbereich (Polkugel) erfassen. Wegen des Friedelschen Gesetzes, wonach die Intensität des gebeugten Strahls für +y und -y gleich ist,

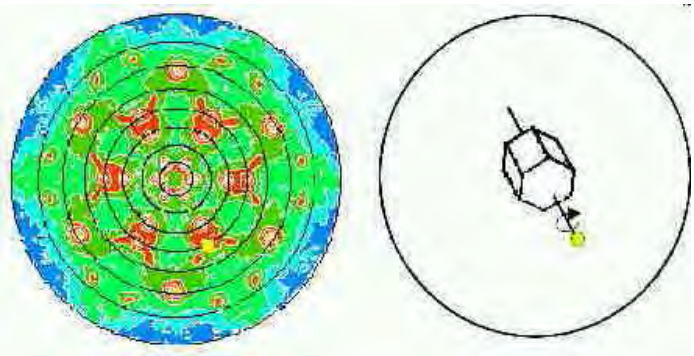

Abbildung 2.11.: Darstellung der vollständigen (112) Polfigur einer hexagonalen GaN-Schicht. Kleine Werte sind blau, große Werte rot eingefärbt.

muss aber nur der halbe Winkelraum abgetastet werden. Experimentelle Einschränkungen führen in der Regel aber zu kleineren Messbereichen, man spricht dann von unvollständigen Polfiguren.

Abbildung 2.11 zeigt die vollständige, experimentelle (112) Polfigur einer hexagonalen GaN-Schicht. In der Polfigur ist ein relatives Maximum mit der Probenrichtung y_p sichtbar, welches durch einen gelben Punkt markiert ist. Die rechte Abbildung zeigt einen Kristalliten dessen Kristallrichtung h_p=(112) parallel zu y_p ist und deshalb einen Beitrag zum entsprechenden Polfigurwert liefert. Beide Vektoren sind miteinander über die Kristallorientierung g (Drehung die K_A nach K_B überführt) durch $h_p = g y_p$ (oder $h_p || y_p$) verknüpft, mit anderen Worten: die Orientierung g projiziert y_p auf h_p. Neben dem Kristallit mit der dargestellten Orientierung leisten auch alle Kristallite einen Beitrag zum 'gelben' Polfigurwert, deren Orientierung sich durch eine beliebige Drehung um die eingezeichnete Achse aus der dargestellten Orientierung ergibt. Die Menge dieser Orientierungen $g_p(\varphi)$ wird Projektionsfaden (oder Orientierungsfaden) genannt, da all diese Orientierungen über $h_p = g_p(\varphi) y_p$ die Probenrichtung y_p auf die Kristallrichtung h_p abbilden.

2.5. Electron backscatter diffraction, EBSD

In der Literatur wird EBSD (*electron backscatter diffraction* oft als EBSP *electron backscatter patterns* oder auch als *backscatter Kikuchi diffraction* bezeichnet [115]. Kikuchi-Linien wurden erstmals im Jahr 1928 von S. Kikuchi beobachtet [116]. Eine detaillierte Betrachtung der EBSD-Methode wurde von V. Randle durchgeführt [117], eine Übersicht zu theoretischen Zusammenhängen mit anderen Beugungserscheinungen wurde durch Reimer *et al.* gegeben [118].
Trifft ein hochenergetischer Elektronenstrahl auf eine Probenoberfläche, so können eine Vielzahl von möglichen Wechselwirkungen auftreten: Goldstein *et al.* und Loretto *et al.* haben diese Prozesse detailliert beschrieben [119, 120]. Die einfachste Wechselwirkung zwischen Probe und eintreffendem Elektronenstrahl ist die elastische Streuung. Weiterhin kann auch eine inelastische Streuung der Elektronen auftreten, bei der diese einen Großteil ihrer potentiellen Energie verlieren. Die elastische Streuung ändert die Trajektorie der eintreffendne Elektronen um 0° und 180 ^{o}. Diese Art der Streuung besteht aus zwei Teilen: (1) Coulomb-Wechselwirkungen der eintreffenden Elektronen mit dem Atomkern (*Rutherford scattering*) und (2) Wechselwirkungen mit der umgebenden Elektronenhülle der Atomkerne.
Wenn ein Elektronenstrahl auf einen Kristall trifft, kommt es zu Brechungserscheinungen zwischen den einzelnen Netzebenen des Kristalls. Die gebrochenen Elektronenstrahlen werden daraufhin an den Netzebenen reflektiert, wobei die Reflexion durch die Bragg-Gleichung beschrieben werden kann (vgl. Abb. 2.12).

Betrachtet man die Streuung von Elektronen an einer Netzebene in drei Raumdimensionen, so bilden die Trajektorien-Elektronen, die der Bragg-Gleichung genügen zwei Kegel (vgl. Abb. 2.13). Jede Netzebene generiert zwei unterschiedliche Intensitätskegel, wobei die Intensitäten jeweils substratspezisch sind. Ein Phosphorschirm kann die so gebeugten Elektronen

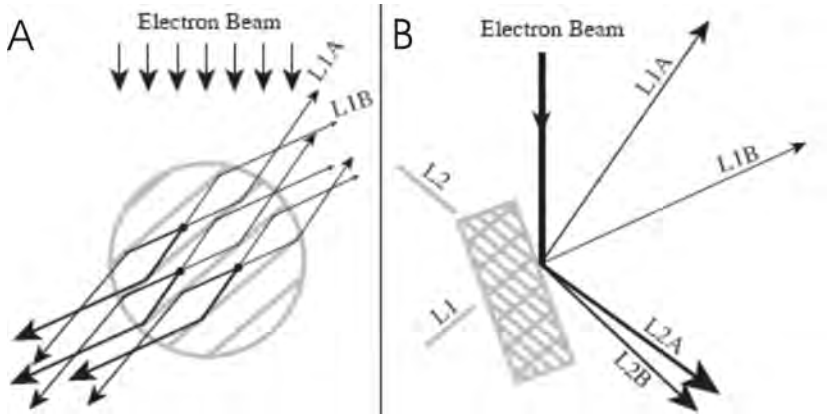

Abbildung 2.12.: (A) Schematische Darstellungen von Beugungserscheinungen an Netzebenen. Eintreffende Elektronen werden an bestimmten Punkten (drei sind gezeigt) gestreut. Es resultieren vier Elektronen-Trajektorien, die der Bragg-Gleichung genügen. Die relative Intensität der gebrochenen Elektronen wird durch die Dicke der Vektoren symolisiert. In (B) wird exemplarisch ein Paar von Netzebenen dargestellt (L1, L2). Das Auftreffen der Elektronen führt zur Brechnung an diesen Ebenen und erzeugt je zwei Strahlen (L1A, L1B und L2A, L2B) die später detektiert werden (aus: [115]).

detektieren und man erhält ein Linenbild, welches als *electron backscatter diffraction pattern* (EBSD pattern) bezeichnet wird (vgl. Abb. 2.14), wobei die auftretenden Kikuchi-Linien den Zonenachsen des betrachteten Kristalls entsprechen.

Da das EBSD-Diagramm abhängig von der zugrundeliegenden Kristallorientierung ist, ändert sich dieses mit der Variation der kristallographischen Orientierung der Probe. Daher lässt sich aus den EBSD-Diagrammen die Orientierung einer kristallinen Proben bestimmen. Die Indizierung der Kikuchi-Linien erfolgt heute vollautomatisiert, dabei wird eine *Hough-Transformation* [122, 123] durchgeführt: Eine Überführung der Raumkoordinaten (x,y) in den Hough-Raum erfolgt über die Beziehung : $\rho = x \cos\theta + y \sin\theta$. Den erhaltenen (ρ, θ)-Wertepaaren werden anschließend durch einen Softwarevergleich mit einer Liste von Netzebenenwinkeln des betrachteten Material

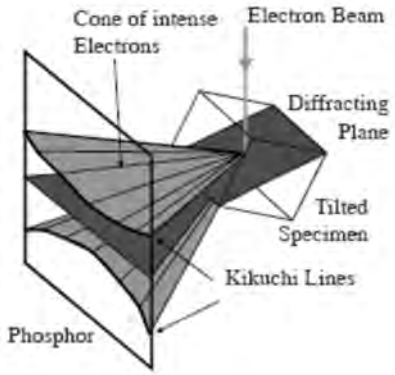

Abbildung 2.13.: Schematische Darstellung zur Bildung von Kikuchi-Linen. Die Brechung von einfallenden Elektronen an einer Netzebene führt zur Ausbildung von zwei Intensitätskegeln. Diese treffen auf einen Phosphorschirm und können so detektiert werden (aus: [121]).

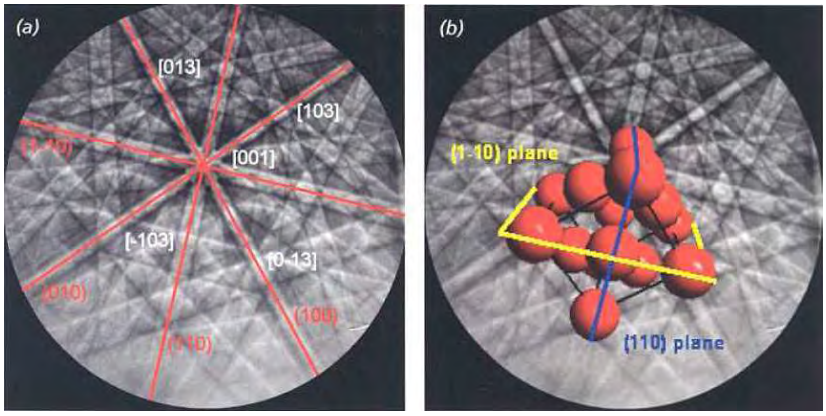

Abbildung 2.14.: (a) zeigt ein indiziertes EBSD-Diagramm eines Nickelsubstrates. Die Kikuchi-Linien sind mit Millerschen Indizes (rot), die Kreuzpunkte der Linen mit Zonenachsensymoblen (weiss) bezeichnet. In (b) ist die Nickeleinheitszelle in zugehöriger Orientierung gezeigt (aus: [115]).

entsprechende Miller-Indizes zugeordnet.

Mit der EBSD-Methode kann ein sogenanntes *Crystal orientation mapping* durchgeführt werden. Dabei rastert der Elektronenstrahl des Elektronenmikroskops einen Probenausschnitt zeilenweise ab und nimmt in regelmäßigen

Abständen ein EBSD-Diagramm auf. Nach automatisch erfolgender Indizierung der Kikuchi-Diagramm wird eine Falschfarbenabbildung erhalten, wobei jeder Farbe eine kristallographische Orientierung zugeordnet werden kann (vgl. Abb. 2.15).

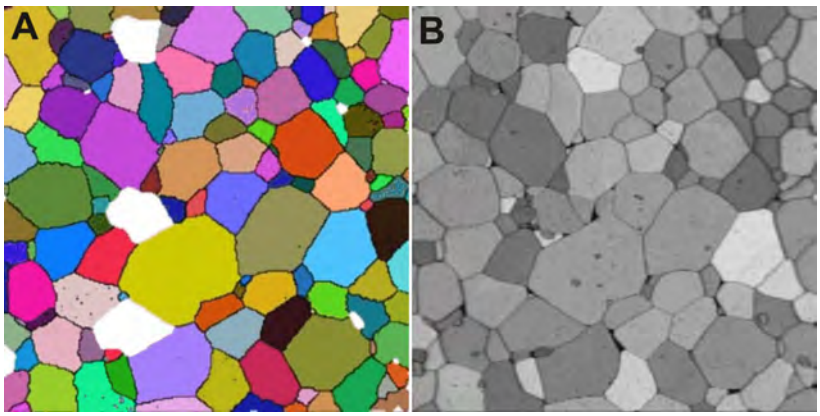

Abbildung 2.15.: EBSD-Karte einer Olivinprobe. (A) zeigt eine repräsentative Darstellung der Orientierungen der einzelnen Dömanen. (B) gibt eine Übersicht zur Qualität der gemessenen Kikuchi-Linien. Dabei entsprechen dunkle Bereiche niedriger Intensität (aus: [124]).

3. Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen

3.1. Kristallisation von Calciumcarbonat in Gegenwart von Magnesium-Ionen

Die Kristallisation von Calciumcarbonat in Gegenwart von Magnesiumionen wurde unter *non-equilibrium* Bedingungen in der Perfusionszelle durchgeführt. Ziel dieser Experimente ist die Untersuchung des Einflusses der experimentellen Bedingungen auf das CC-Mg-System. Im Experiment werden, ausgehend von 10 mM $CaCl_2$ - Lösung, unterschiedliche Ca/Mg - Verhältnisse eingestellt. Die Ergebnisse der sich anschließenden SEM- und XRD-Studien sind im folgenden beschrieben.

Aus den Morphologieuntersuchungen geht hervor, dass mit kleiner werdenden Ca/Mg - Verhältnissen der Einfluss des Magnesiums auf die Kristallisation von Calcit steigt. Mit steigendem Mg-Gehalt weisen die gebildeten Kristalle immer stärkere morphologische Veränderungen auf. Die Mg-Ionen adsorbieren bevorzugt an {01.1}-Calcitflächen und stören auf diese Weise das geordnete Wachstum des Kristalls. Bei Ca / Mg-Verhältnissen von 3:1 und 2:1 ist zu erkennen, dass der Calcitkristall sich entlang der kris-

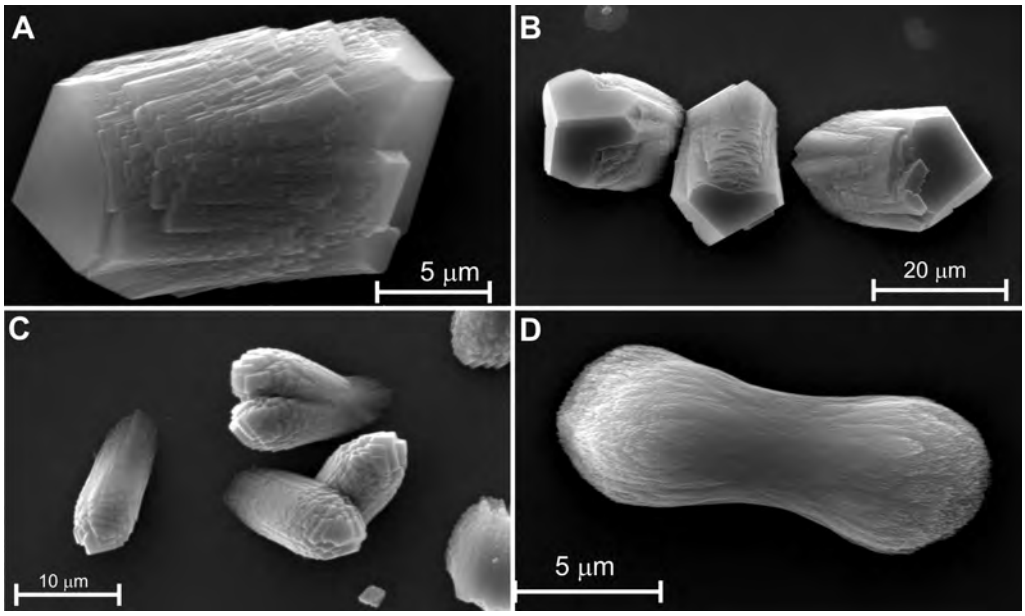

Abbildung 3.1.: SEM-Aufnahmen von magnesiumhaltigem Calcit bei unterschiedlichen Ca/Mg-Verhältnissen. (A) Ca/Mg = 3:1 (B) Ca/Mg = 2:1 (C) Ca/Mg = 1:1, (D) Ca/Mg = 1:2. Deutlich ist die zunehmende Störung des Calcitwachstums mit steigendem Magnesiumanteil zu erkennen.

tallographischen c-Achse verlängert, was gut mit Angaben in der Literatur übereinstimmt [66]. Weiterhin wird der entlang der c-Achse verlängerte Kristall, von {10.4}-Flächen begrenzt. Ab einem Ca / Mg - Verhältnis von ≤ 1 sind die durch das Magnesium verursachten Störungen so stark, dass der Kristall zunehmend aus kleineren Kristalliten aufgebaut erscheint (vgl. Abb. 3.1). Auch diese Beobachtungen entsprechen Angaben in der Literatur [66]. Wird der Magnesiumanteil weiter erhöht (Ca / Mg $\leq$ 1:4), so kommt es zu einer vollständigen Inhibierung des Kristallwachstums. Erwartungsgemäß sollte ab einem Konzentrationverhältnis von Ca / Mg = 1:6 die Kristallisation des thermodynamisch stabilsten Polymorphs vollständig unterdrückt werden und ausschließlich Aragonit kristallisieren. Solch ein Verhalten wird jedoch nicht beobachtet. Eine vollständige Inhibierung des Kristallisations-

vorgangs wird zwar erreicht, es kommt jedoch nicht zu einer hinreichenden Übersättigung des Aragonitsystems. Eine Ursache hierfür ist die zu geringe Konzentration der verwendeten Elektrolyte (10 mM). Wird die Elektrolytkonzentration auf 25 mM $CaCl_2$ und Na_2CO_3 erhöht, so werden Präzipitate erhalten.

Aus XRD-Untersuchungen an erhaltenen Calcitproben lässt sich der verstärkte Einbau von Magnesium in das Kristallgitter dokumentieren. Ein erhöhter Mg-Gehalt im Calcit führt zu einer Verschiebung des {10.4}-Signals hin zu höheren 2θ-Werten (vgl. Abb. 3.2). Auffällig ist dabei, dass sich die Verschiebung der jeweiligen {10.4}-Signale in regelmäßigen Schritten verläuft. Zunächst erfolgt eine Verschiebung um 0.05, dann - bei weiterer Erhöhung des Mg-Anteils - um 0.2. Wird das Ca / Mg -Verhältnis auf 1:4 verringert erfolgt wieder eine Verschiebung um 0.05 Einheiten. Die Lage der Signal im XRD-Diagramm hängt ausschließlich von der Bragg-Gleichung ab. Daher lässt sich folgern, dass sich der Netzebenenabstand im Kristall ändern muss. Das ergibt sich aus der Tatsache der unterschiedlichen Ionenradien von Mg^{2+}- (0.78 $\AA$) und Ca^{2+}-Ionen (1.06 $\AA$). Dadurch verändert sich mit zunehmendem Mg-Gehalt die Gitterkonstante, was zu einer Verschiebung des {10.4}-Beugungsreflexes im Diffraktogramm zu höheren Werten auf der Absisse führt. Diese Verschiebung ist gleichbedeutend mit einer Verringerung der d-Werte. Aus einer von Goldsmith und Graf stammenden Eichkurve für magnesiumhaltigen Calcit kann anschließend auf den Mg-Gehalt der Probe geschlossen werden (vgl. Tab. 3.1) [125]. Bei den betrachteten Proben handelt es sich demnach um Tief-Mg-Calcit, welcher sich durch einen Mg-Gehalt von 0-4 Mol% $MgCO_3$ auszeichnet. Hoch-Mg-Calcit hat einen Mg-Gehalt von größer 4 Mol% [126]. Natürliche Calciumcarbonatsedimente können einen Mg-Gehalt von bis zu 20 Mol% erreichen.

Tabelle 3.1.: Übersicht zu den {10.4}-Calcitpeaks und den daraus abgeleiteten Mg-Gehalten.

Ca / Mg	{10.4}-Peakposition	Mol% Mg
3 : 1	29.22	0-1
2 : 1	29.27	1-2
1 : 1	29.42	2-4
1 : 2	29.47	5-6

3.2. Kristallisation unter dem Einfluss von organischen Makromolekülen

Die Kristallisation von CC unter dem Einfluss von PAA erfolgt in der Durchflusszelle. Die zugesetzten Mengen an PAA werden in den Experimenten schrittweise erhöht und der Einfluss auf die Kristallbildung per SEM und XRD dokumentiert. Bei der verwendeten Polyacrylsäure handelt es sich um das entsprechende Natriumsalz mit einem Molgewicht von etwa 2100 g mol^{-1}. Auch andere ataktische Polyacrylsäuren haben Verwendung gefunden. Jedoch zeigte sich, dass nur PAA mit einem Molgewicht von 2100 g mol^{-1} eine ausreichende Wasserlöslichkeit aufweist, so dass Versuche in der Durchflussanordnung mit höhermolekularen Polysäuren nicht durchgeführt werden konnten. PAAs mit Molgewichten von 20.000 bzw. 60.000 g mol^{-1} sind kaum bzw. gar nicht wasserlöslich. Dies ist vermutlich auf die Bildung von unlöslichen Ca-Komplexen zurückzuführen.
Der Einfluss von PAA auf die Kristallisation zeigte sich schon ab einer Konzentration von 0.10 mg mL^{-1}. Ab etwa 0.24 mg mL^{-1} zeigen die wachsenden Kristalle deutliche Deformationen an Kanten und Flächen. Weiterhin ist zu beobachten, dass vermehrt größere Kristallaggregate auftreten, die auch von Gower *et al.* beschrieben wurden [127] (vgl. Abb. 3.3).
Ab einer Konzentration von 0.60 mg mL^{-1} wird das Kristallwachstum na-

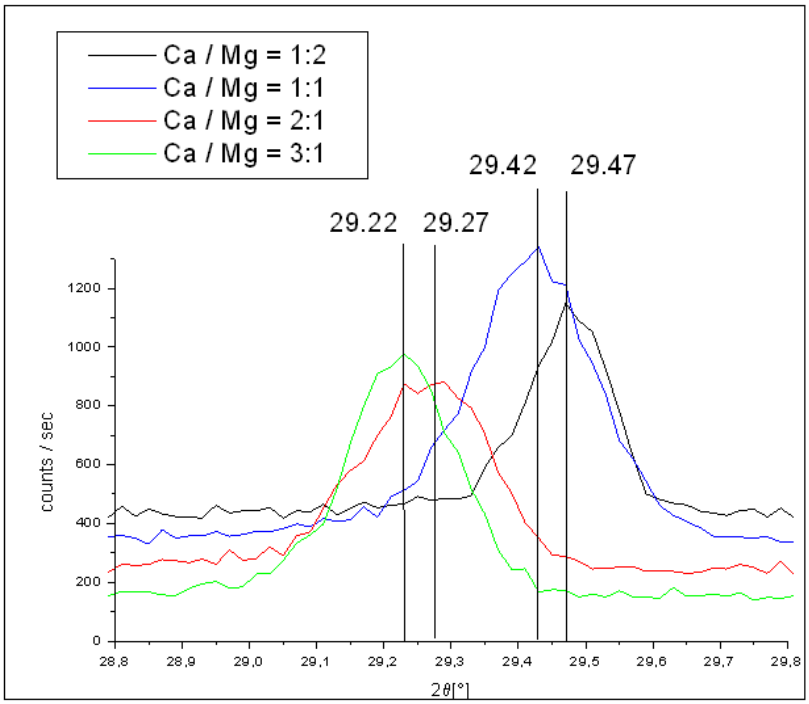

Abbildung 3.2.: XRD-Diagramme von magnesiumhaltigem Calcit in der Region um $2\theta = 29^o$. Dargestellt ist der {10.4}-Calcitpeak, welcher sich mit zunehmendem Mg-Anteil zu höheren Werten hin verschiebt.

hezu vollständig inhibiert. Die zugesetzte Menge an PAA hat keinen Einfluss auf die Wahl des Polymorphs. Anhand von XRD-Untersuchungen wird deutlich, dass ausschließlich Calcit gebildet wird. Andere Polymorphe (Aragonit, Vaterit) werden während der Experiments nicht beobachtet. Auch hat das zugesetzte organische Makromolekül keinen dirigierenden Einfluss. Als dominierende Orientierung findet man stets die energetisch günstige {10.4}-Orientierung. Auch die relativen Verhältnisse der Intensitäten in XRD-Diagrammen entsprechen dem eines theoretischen Calcitpulverdiagramms (vgl.Abb. 3.4).

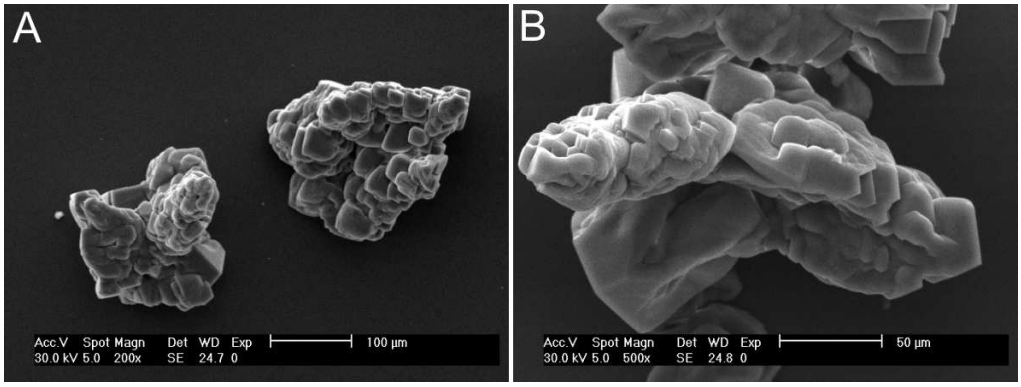

Abbildung 3.3.: SEM Bilder von typischen Calcitaggregaten, gewachsen in der Durchflusszelle unter dem Einfluss von PAA (0.30 mg mL^{-1}). Die zu erkennenden Auswüchse und turmartigen Strukturen sind für dieses System typisch und treten vermehrt in diesem Konzentrationsbereich auf.

Weiterhin wurden Kristallisationsexperiment unter dem Einfluss von Poly-(Asparaginsäure) und Poly(glutaminsäure) durchgeführt. Es zeigt sich ein ähnliches Verhalten, verglichen mit dem Einfluss von PAA auf das Kristallisationssystem. Jedoch sind beide Poly-Aminosäuren deutlich aktiver, d.h. sie inhibieren die Kristallisation von Calciumcarbonat erheblich stärker als PAA dies vermag. Der untersuchte Konzentrationsbereich liegt für beide Säuren zwischen 4.0 μg mL^{-1} bis 5.5 μg mL^{-1}. Wiederum ist ein starker Effekt auf die Kristallmorphologie zu beobachten (vgl. Abb. 3.5). Auf das gebildete Polymorph haben diese organischen Polymere keinen Einfluss. Bei hohen Konzentrationen wird das Kristallwachstum fast vollständig inhibiert und möglicherweise eine amorphe Calciumcarbonatphase stabilisiert. Jedoch wurden Studien zur Stabilisierung von amorphen Kristallphasen in aller Ausführlichkeit nur mit dem System CC / PAA durchgeführt. Aufgrund der Ähnlichkeit der verwendeten Makromoleküle (pAsp, pGlu, PAA) lässt sich jedoch vermuten, dass sowohl pAsp als auch pGlu zur Stabilisierung derartiger amorpher Phasen herangezogen werden können. Weiterführende Details zur Abscheidung von amorphen Calciumcarbonatphasen finden sich

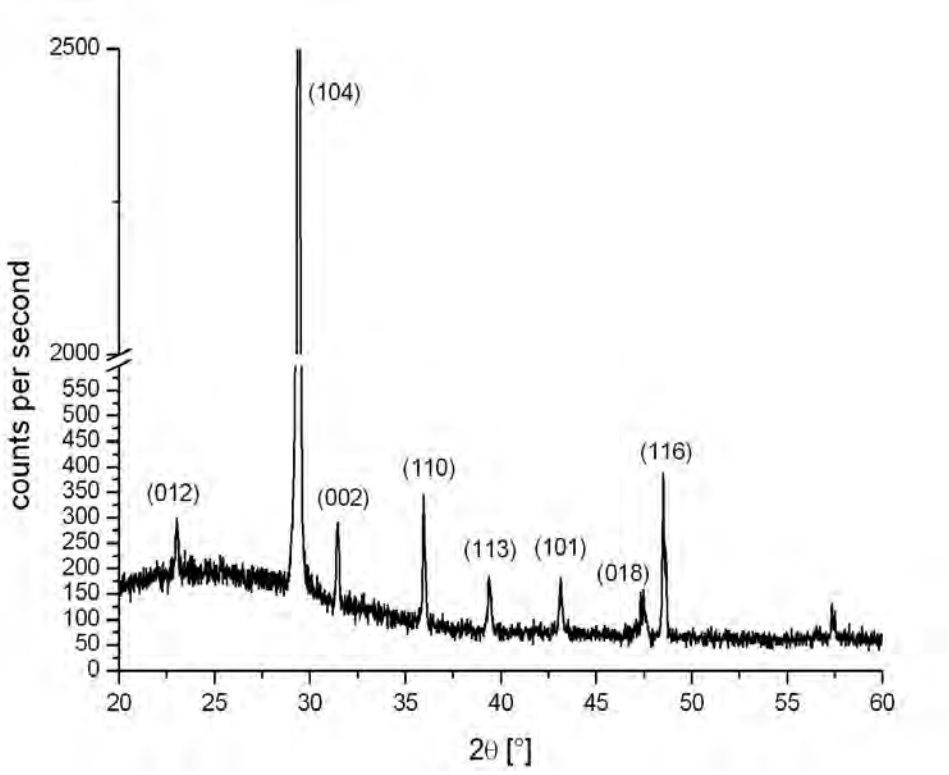

Abbildung 3.4.: XRD-Diagramm von Calciumcarbonat, gewachsen in Gegenwart von 0.24 mg mL^{-1} PAA.

in Kapitel 3.3.

Die im System pAsp/pGlu erhaltenen Calcitkristalle weisen allesamt starke Deformationen auf. Insbesondere sind große Teile der Kristallflächen regelmäßig erodiert, was zur Folge hat, dass stufenartig strukturierte Aggregate gebildet werden. Die auf diese Art und Weise gebildeten Auswüchse haben eine strukturelle Ähnlichkeit mit den PAA-Aggregaten, sind in diesem Fall jedoch wesentlich feiner strukturiert. Gower *et al.* haben den Einfluss von pAsp auf das Calciumcarbonatsystem beschrieben [127, 60]. Die von dieser Arbeitsgruppe beschriebenen Untersuchungen wurden mit Diffusionstechniken in einem Konzentrationsbereich von 0.5 - 30.0 mg mL^{-1}

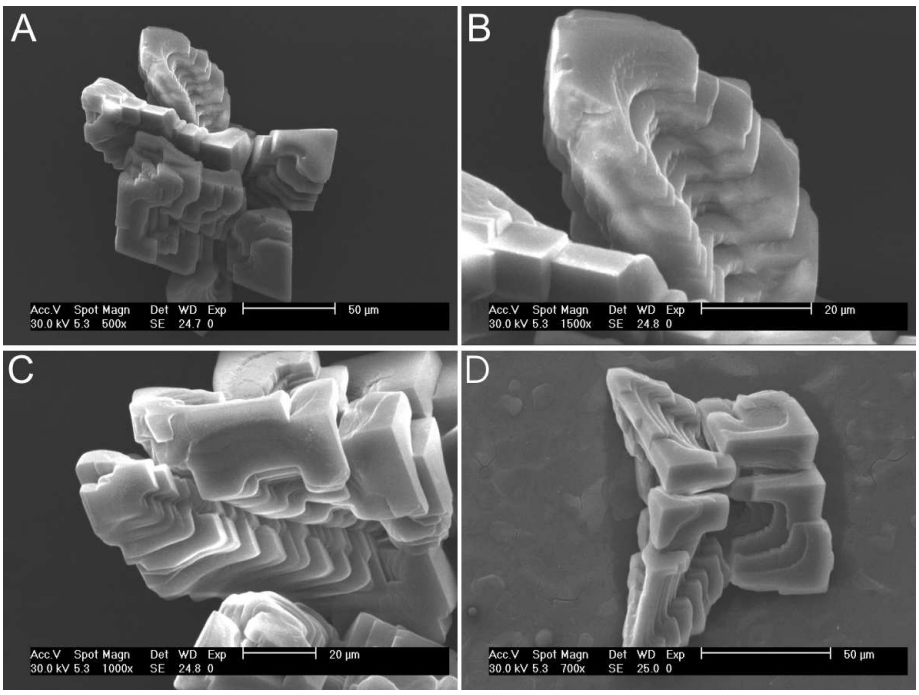

Abbildung 3.5.: SEM-Aufnahmen von typischen Calcitaggregaten gewachsen in einem Diffusionsexperiment unter dem Einfluss von pAsp [127].

durchgeführt. Dabei fanden pAsp als auch pGlu Verwendung. Man fand, dass in unteren Konzentrationsbereichen (bis 0.5 μg mL^{-1}) zunächst eine Erosion der {10.4}-Kristallfächen stattfindet (vgl. Abb. 3.6). Wird die Konzentration an Additiven weiter erhöht (1-5 μg mL^{-1}), so neigt das System immer stärker dazu, größere Aggregate aus CC zu bilden. Ab Konzentrationen von 5 μg mL^{-1} werden sphärische Strukturen gebildet, die teilweise spiralförmige Auswüchse bilden (vgl. Abb. 3.6, Bild B). Auffällig ist, dass sowohl links- als auch rechtsgängige Spiralen gebildet werden und dass hierzu kein chirales Makromolekül notwendig ist. Andere Versuche haben gezeigt, dass die Bildung derartiger Strukturen auch in Gegenwart der achiralen Poly(D,L-asparaginsäure) gelingt. Eine weitere Auffälligkeit ist die Tatsache, dass die gezeigten Spiralen aus Vaterit bestehen, was durch WAXD-

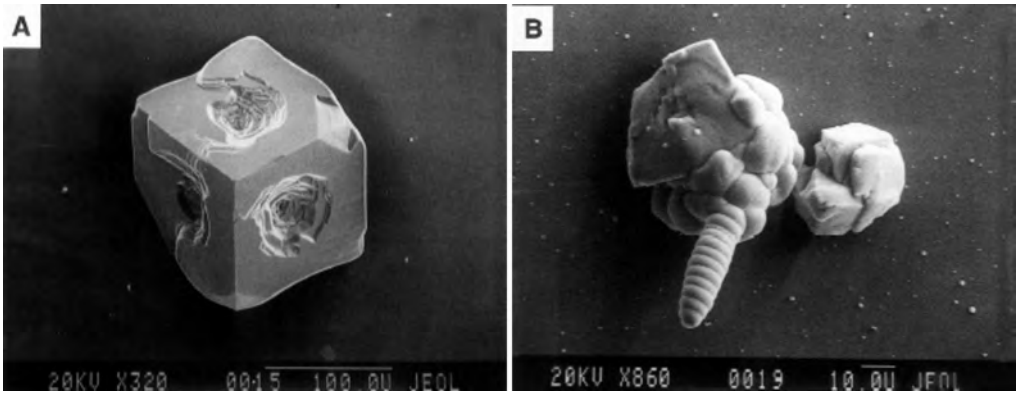

Abbildung 3.6.: SEM-Aufnahmen von $CaCO_3$ gezüchtet in Gegenwart von pAsp. In Bild (A) sind deformierte Calcitrhomboeder gezeigt, die an den {10.4}-Flächen starke Deformationen aufweisen. Diese Strukturen erhält man bei einer Konzentration von 0.5 μg mL^{-1}. Die in Bild (B) gezeigten Aggregate bilden sich bei 10 μg mL^{-1} pAsp und zeigen völlig deformierte Kristallite, die oft spiralförmige Auswüchse bilden. Der gezeigte Messbalken hat im linken Bild eine Länge von 100 μm und im rechten Bild eine Länge von 10 μm. Die Bilder sind aus [127] entnommen.

Messungen bestätigt wurde und dass die Helices im Inneren Hohlräume aufweisen. Das Erscheinen von Vaterit wurde auch in anderen Kristallisationssystemen beobachtet [128]. Vermutlich entsteht Vaterit aus instabilen, amorphen Vorläuferphasen und wandelt sich in Duchflussexperimenten in das thermodynamisch stabilere Polymorph Calcit um, so dass es bei diesen Experimenten nicht beobachtet werden konnte.
Bei noch höheren Konzentrationen (10 - 30 μg mL^{-1}) wird zudem die Ausbildung eines anorganischen Dünnfilmes beobachtet. Dieser Film hat eine Mosaikstruktur und liegt neben den oben beschriebenen helikalen CC-Strukturen vor. Jedoch bildet dieser Dünnfilm nur begrenzt zusammenhängende Flächen, auch ist wenig über die Dicke und laterale Ausdehnung des Filmes berichtet worden, so dass hierzu keine weiteren Angaben gemacht werden können.

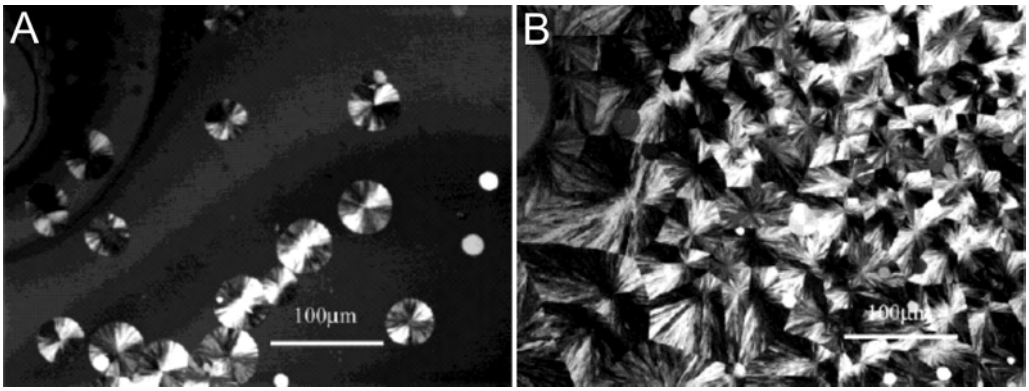

Abbildung 3.7.: Optische Aufnahmen mit gekreutzen Polarisatoren von dünnen CC-Filmen. Diese Strukturen wurden von Xu *et. al* hergestellt [128]. (A) zeigt erste Kristallisationsansätze nach 2 h, (B) zeigt einen fast flächigen Film nach 16 h. Die Kristallisation erfolgte unter dem Einfluss von PAA.

Das Wachstum von dünnen Calciumcarbonatfilmen wurde auch von Xu *et al.* beschrieben [128]. Wiederum diente hier ein Diffusionsansatz zur Abscheidung von Calciumcarbonat. PAA wurde als Kristallisationsinhibitor eingesetzt. Bei einer Konzentration von 10 μg mL^{-1} PAA wurde nach wenigen Stunden eine amorphe CC Schicht beobachtet. Einige wenige, stark deformierte Calcitrhomboeder fanden sich sporadisch auf der Probe. Die XRD-Messungen zeigten jedoch keinerlei Reflexe, was ein sehr guter Hinweis auf das Vorhandensein eines amorphen Film ist. Der so erhaltene amorphe Film wurde einige Stunden an der Luft unter Standardbedingungen gelagert. Nach etwa 2 h konnte mit Hilfe von optischer Mikroskopie eine Phasentransformation innerhalb des Films beobachtet werden (vgl. Abb. 3.7). Durch SEM - Charakterisierung des erhaltenen Dünnfilms stellte man fest, dass der Film eine Dicke von etwa 400 nm und zudem eine Art Porenstruktur aufweist. Weiterhin besteht der Film aus zwei Polymorphen: Durch XRD-Messungen wurde gezeigt, dass der Film sowohl aus Calcit als auch aus Vaterit besteht.

Die vorgestellten Untersuchungen über den Einfluss von sauren Makromolekülen auf das Kristallisationsverhalten sind gut mit den Ergebnissen von Gower *et al.* vergleichbar. Die erhaltenen morphologischen Strukturen sind ähnlich, obwohl keine spiralförmigen Auswüchse beobachtet wurden. Die von Gower *et al.* beobachteten kristallinen Dünnfilme, welche in Gegenwart von pAsp erzeugt wurden, konnten flächiger und regelmäßiger von Xu *et al.* mit Hilfe von PAA dargestellt werden. Da derartige kristalline Dünnfilme von großem Interesse sind, haben wir die Idee zur Darstellung eines amorphen Precursorfilms aufgenommen und auf ein Durchflussexperiment übertragen. Unter *non-equilibrium* Bedingungen liegt eine konstante Konzentration von PAA vor, was dazu führt, dass sich ein sehr regelmäßiger ACC-Film auf einem Glassubstrat abscheidet. Diese Experimente werden nachfolgend beschrieben.

3.3. Morphosynthese von perlmuttartig strukturiertem Calcit

Im weiteren Verlauf werden die Ergebnisse aus den Versuchen zur Darstellung von perlmuttartig strukturiertem Calcit vorgestellt. Dieser neuartige, morphosynthetische Ansatz beruht auf der Ausbildung eines polykristallinen Dünnfilms, bei dessen Bildung von einer metastabilen amorphen Vorläuferphase ausgegangen wird. Der polykristalline Dünnfilm wiederum fungiert im Versuch als Kristallisationstemplat, auf dem unter *non-equilibrium* Bedingungen Calcitkristalle aufwachsen. Dieser morphosynthetische Ansatz ist in folgender Abbildung (vgl. Abb. 3.8) schematisch dargestellt.

In einem typischen Experiment fließt eine mit $CaCO_3$ übersättigte Lösung kontinuierlich durch eine Perfusionszelle, die auf einem Mikroskop aufgesetzt wurde, wodurch eine Videodokumentation der Kristallisation ermöglicht

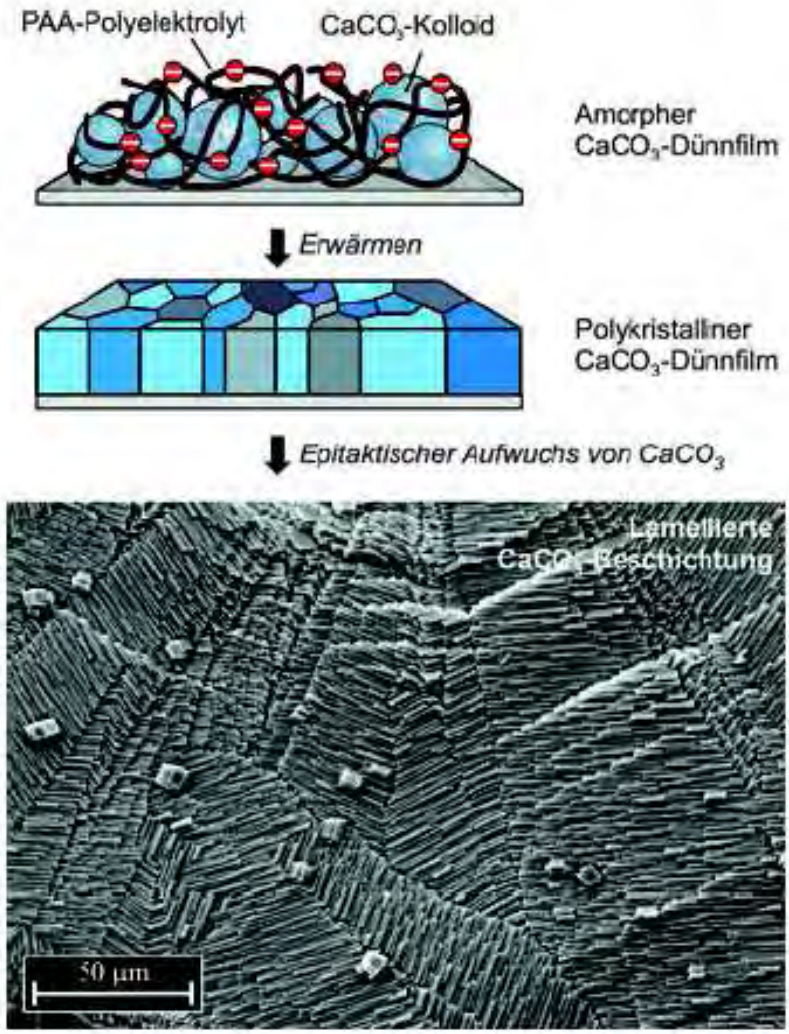

Abbildung 3.8.: Schematische Abbildung des morphosynthetischen Ansatzes zur Darstellung von perlmuttartig strukturiertem Calcit. In einem ersten Schritt wird unter dem Einfluss eines Kristallisationsinhibitors (PAA) eine metastabile ACC-Schicht abgeschieden, die durch Erhitzen eine Phasentransformation erfährt. Es resultiert ein polykristalliner Dünnfilm, der im letzten Schritt als Kristallisationstemplat verwendet wird und auf dem hochorientiertes Calciumcarbonat isoepitaktisch aufwächst [129, 130].

wird. Zur Aufrechterhaltung einer konstanten Übersättigung werden 10 mM Lösungen aus $CaCl_2$ und Na_2CO_3 in eine Mischkammer eingeleitet, die mit dem Eingangskanal der Perfusionszelle verbunden ist.
Im ersten Schritt wird ein amorpher $CaCO_3$-Vorläuferfilm auf der Oberfläche zweier Deckgläser abgeschieden. Dabei gibt man zu der $CaCl_2$-Lösung ein anionisches Polymer (PAA), das als prozessdirigierendes Agens zunächst eine flüssig-flüssig-Phasenseparation einleitet, woraufhin sich schließlich der amorphe Vorläuferfilm bildet [60]. In vorbereitenden Untersuchungen wurde der Einfluss von Molekulargewicht, Konzentration und chemischer Natur des Polyelektrolyten untersucht (vgl. Kap. 3.2); dabei stellte sich heraus, dass niedermolekulare ataktische Polyacrylsäure (PAA, durchschnittliches M_w = 2100 g/mol; 8.0 Gew. %) zur Stabilisierung amorpher $CaCO_3$-Vorläuferfilme am besten geeignet ist. Der amorphe Dünnfilm zeigt charakteristische Schwankungen der optischen Dichte (Mäandertextur, Abbildung 3.9).

Elektronenmikroskopische Aufnahmen (vgl. Abb. 3.9) unterschiedlicher Filmregionen zeigen, dass die Mäandertextur auf einer ungleichförmigen Verteilung granulärer Substanz beruht, vermutlich hervorgerufen durch eine turbulente Strömung in der Perfusionszelle. Bei stärkeren Vergrößerungen wird deutlich sichtbar, dass der amorphe Dünnfilm aus aggregierten Kolloidpartikeln mit einer schmalen Größenverteilung von 20−30 nm besteht (vgl. Abb. 3.10). Das IR-Spektrum eines amorphen Dünnfilmes zeigt eine breite Doppelbande bei 1479 und 1419 cm^{-1}, sowie eine zusätzliche schwache Bande bei 675 cm^{-1}. Dies zeigt deutlich, dass die Kolloidpartikel hauptsächlich aus amorphem $CaCO_3$ bestehen [1]. Wird das beschichtete Substrat bei Raumtemperatur mehrere Tage getrocknet, erfolgt eine

[1] Die starke Bande bei $\tilde{\upsilon}_3 = 1415 cm^{-1}$ wird der asymmetrischen C-O-Streckschwingung von CO_3^{2-} im Calcit zugeordnet, die Bande bei $\tilde{\upsilon}_2 = 875 cm^{-1}$ der CO_3^{2-}−Deformationsmode und die Bande bei $\tilde{\upsilon}_4 = 711 cm^{-1}$ der O-C-O-Biegeschwingung im kristallinen Calcit [102].

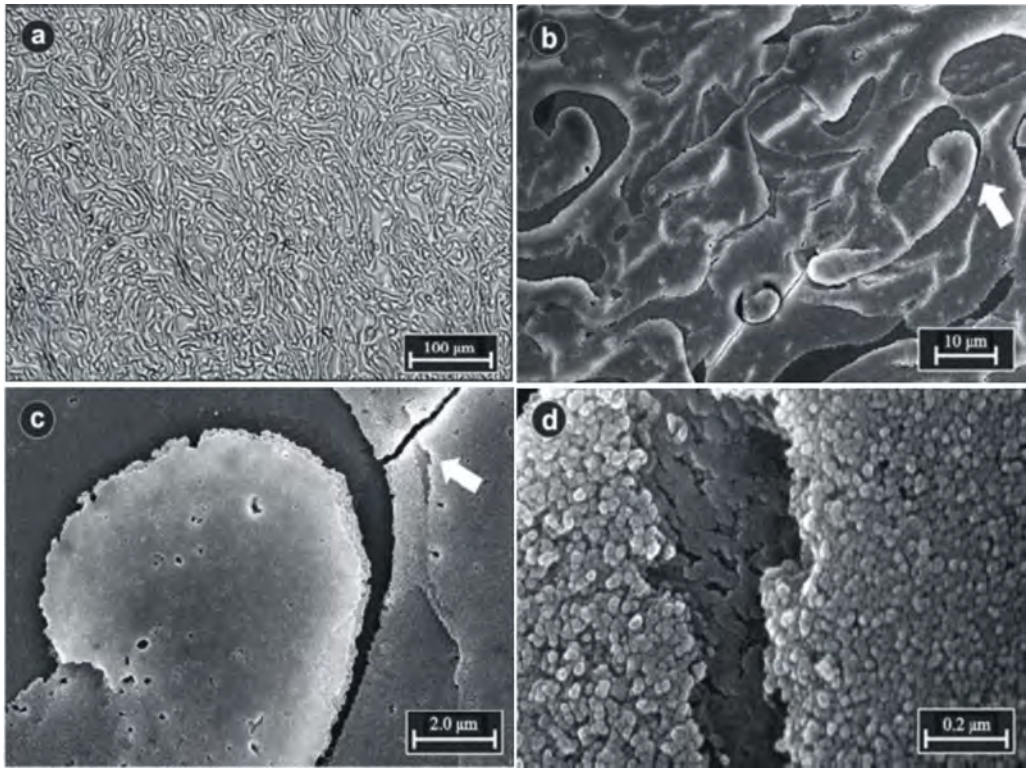

Abbildung 3.9.: Verschiedene Abbildungen des amorphen Vorläuferfilms. (a) zeigt eine optische Aufnahme der erhaltenen Mäandertextur, (b-d) zeigen höchauflösende SEM-Aufnahmen des amorphen Dünnfilms [129].

partielle Umwandlung des $CaCO_3$-Dünnfilmes vom amorphen in den kristallinen Zustand. Eine vollständige Umwandlung wird erreicht, wenn man den amorphen Vorläuferfilm zwei Stunden auf 400 ^oC erhitzt. Man erhält so einen gleichmäßig dünnen (typisch: 500 - 700 nm), optisch doppelbrechenden Film, dessen polarisationsmikroskopische Abbildung eine charakteristische Mosaikstruktur zeigt (Abbildung 3.11). Homogen erscheinende Domänen sind hier teilweise durch Risse voneinander getrennt, die sich während des Trocknens und des Erwärmens bilden. Rasterelektronenmikroskop-Aufnahmen (vgl. Abb. 3.11) zeigen, dass die amorphen $CaCO_3$ - Kol-

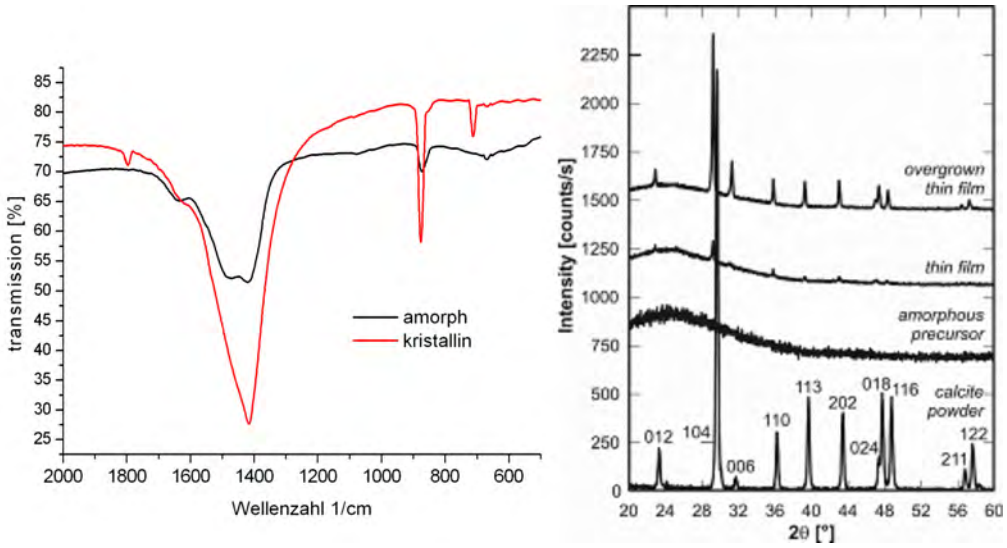

Abbildung 3.10.: Links: Durch die abgebildeten IR-Spektren wird die Phasenumwandlung des amorphen Dünnfilms in einen calcitischen Dünnfilm dokumentiert. Besonders auffällig ist das Verschwinden des Dubletts bei etwa 1450 cm^{-1} und das Auftreten der scharfen Bande bei etwa 870 cm^{-1}. Rechts: Vergleichende XRD-Diagramme aller drei Stufen (amorpher Precursorfilm, Calcitdünnfilm, Aufwuchsexperiment), sowie ein Vergleichsdiagramm von Calciumcarbonatpulver (Calcit) [129].

loidpartikel miteinander verschmelzen und dabei einen nahezu homogenen, kristallinen Dünnfilm bilden. Diese Ergebnisse werden durch eine Abbildung der Filmoberfläche mit Rasterkraftmikroskopie ergänzt (vgl. Abb. 3.12), die unmittelbar erkennen lässt, dass die Filmoberfläche auf atomarer Ebene nicht glatt ist, sondern eine Rauhigkeit aufweist (quadratischer Mittelwert der Oberflächenrauhigkeit $R_q = 16.90$ nm), die mit der Größe der $CaCO_3$-Kolloidpartikel im Vorläuferfilm gut korreliert. Die Charakterisierung der Mineralphase erfolgte durch IR-Spektroskopie und Röntgenbeugung. Die im IR-Spektrum sichtbaren Banden bei $\tilde{\nu} = 1415$, 875 und 711 cm^{-1} sind charakteristisch für Calcit (vgl. Abb. 3.10).

Die Röntgenbeugung ergibt scharfe Signale, die eindeutig dem Kristallsys-

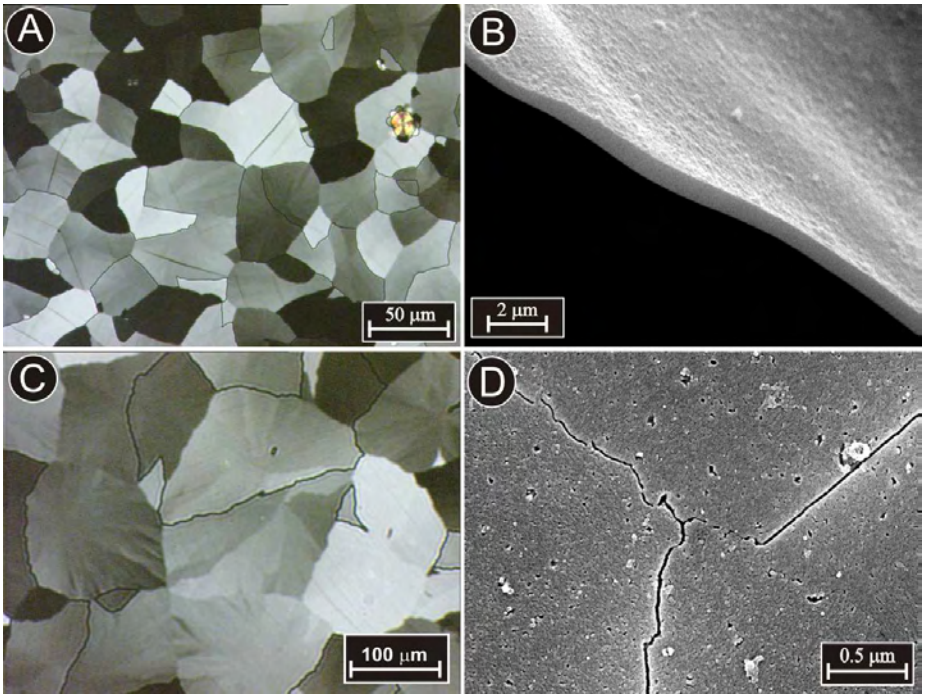

Abbildung 3.11.: Optische und elektronenmikroskopische Abbildungen des polykristallinen Calciumcarbonat-Dünnfilms. (a) und (c) zeigen jeweils polarisationsmikroskopische Aufnahmen und (b) und (d) elektronenmikroskopische Aufnahmen. Deutlich ist in Abbildung (d) das Verschmelzen der granulären Struktur des Films, nach dem Erhitzen zu erkennen [129].

tem von Calcit zugeordnet werden können (vgl. Abb. 3.10). Darüber hinaus gibt es keine Anzeichen für die Bildung von anderen $CaCO_3$-Polymorphen (Aragonit, Vaterit) während des Erwärmens. Die relativen Intensitäten der beobachteten Röntgenreflexe weichen nur wenig von denen einer pulverförmigen Calcitreferenzprobe ab. Erwähnenswert ist hier noch am ehesten die verminderte Intensität des (10.4)-Reflexes; insgesamt zeigt sich der polykristalline Calcitdünnfilm jedoch keine aussergewöhnliche Bevorzugung einer bestimmten Kristallorientierung, was auch durch anschließende Texturuntersuchungen bestätigt wurde. Die Messungen wurden teils gekop-

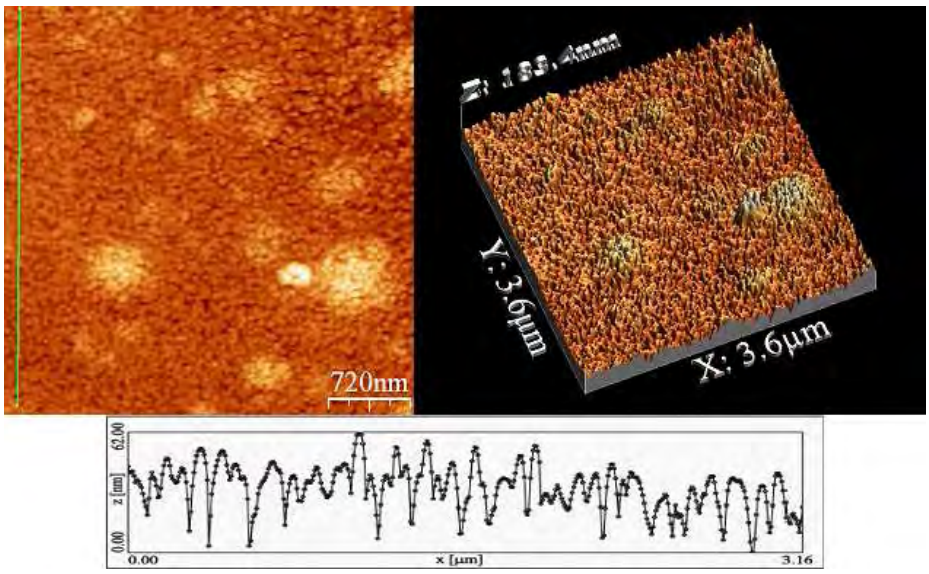

Abbildung 3.12.: AFM-Abbildung der polykristallinen Dünnfilmoberfläche. Deutlich kann die konservierte Partikelstruktur der amorphen ACC-Vorläuferphase erkannt werden. Aus dem Höhenprofil lässt sich eindeutig die relativ rauhe Oberfläche der Probe ausmachen (RMS = 16.9 nm) [129].

pelt und mit streifendem Einfall gemessen, um die Intensitäten der Reflexe zu erhöhen (vgl. Abb. 3.13). Die Ergebnisse zeigen, dass der {10.4}-Calcitreflex im Vergleich zu den anderen Hauptintensitäten etwas stärker ausgeprägt ist. Jedoch ist dies kein Hinweis auf eine Vorzugsorientierung, wie aus der Polfigur (vgl. Abb. 3.13) zu entnehmen ist. Die Abbildung zeigt die {10.4}-Polfigur bei $2\theta = 29.42^o$. Die 3-dimensionale Abbildung der {10.4}-Orientierungdichtefunktion weist keine Maxima auf, d.h. die Menge der Orientierungen $g_p(\varphi)$ über die betrachtete Probenfläche ist gleichförmig verteilt. Läge eine {10.4}-Vorzugsoriertierung vor, so würden ein Maximum in der gezeigten Polfigur zu erkennen sein.

EBSD - Analysen von polykristallinen Dünnfilmoberflächen bestätigen,

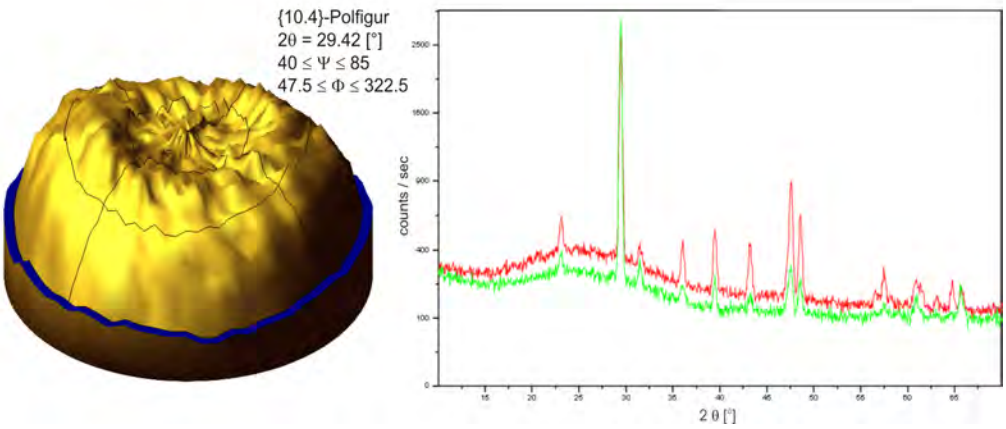

Abbildung 3.13.: XRD-Diagramme von polykristallinen Dünnfilmen (Calcit). Die rote Kurve zeigt ein XRD-Diagramm gemessen unter streifendem Einfall (3°), die grüne Kurve zeigt einen gekoppelten scan. Die gezeigte {10.4}-Polfigur weist keine Maxima auf, daher kann nicht von einer bevorzugten Orientierung gesprochen werden.

dass die Probe eine regellose Textur besitzt. Eine Analyse der Größenverteilung der einzelnen Domänen ergibt, dass sich diese von 1.03 bis 1656 μm^2 erstrecken. Die Verteilung ist jedoch nicht gleichförmig, sondern weist vereinzelt Sprünge auf (vgl. Abb. 3.14). Maxima in der Größenverteilung liegen bei 1, 513, 1250 und 1693 μm^2. Auch finden sich gehäuft Domänen im Bereich von 1.03 - 3.83 μm. Diese Beobachtung ist leicht zu verstehen, wenn man berücksichtigt, dass der polykristalline Dünnfilm aus einer amorphen Vorläuferphase hervorgeht, die eine Phasentranformation durch Wärmeeinwirkung erfahren hat. Infolgedessen kommt es zum Entweichen von H_2O und CO_2, was Risse im Dünnfilm entstehen lässt. Dies führt teils zu sehr kleinen einkristallinen Domänen.

Die wärmeinduzierte Phasentranformation hat weiterhin zur Folge, dass die einkristallinen Domänen teilweise einen *Gradienten* aufweisen, d.h. nicht absolut gleichförmig orientiert sind. Diese Beobachtung kann durch eine Fehlorientierungskarte einer Probenregion verdeutlicht werden. Größte Ab-

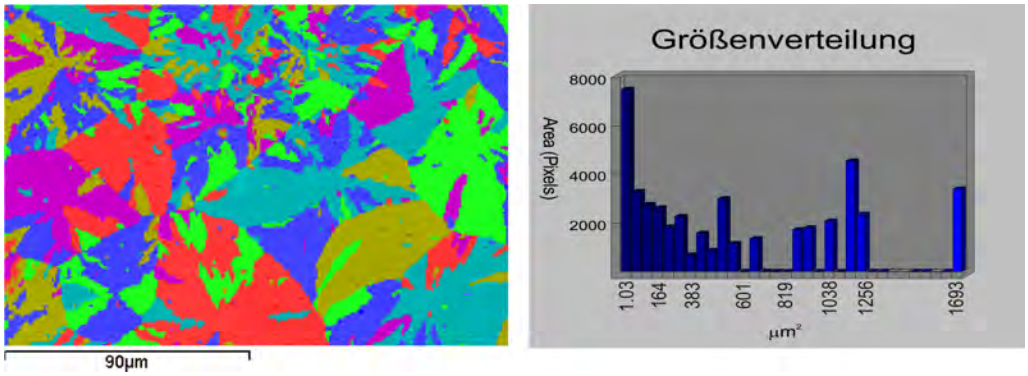

Abbildung 3.14.: Größenverteilung von kristallinen Domänen des polykristallinen Calcitfilms. Es wird deutlich, dass die Domänengröße stark schwankt, jedoch einzelne Maxima bei 1.03, 1250, 513 und 1693 μm^2 auftreten.

weichungen von der Hauptorientierung einer Domäne ist an deren Rändern zu beobachten, was auf das Vorhandensein von Rissen zurückzuführen ist. Weiterhin ist eine Häufung von Winkelabweichung um 60° auffällig. Es ist anzunehmen, dass die Kristallgitter an diesen Stellen verzwillingt sind.

Eine Analyse der kristallographischen Orientierungen von einzelnen Domänen zeigt Abbildung (3.15). Dargestellt ist in einem Falschfarbenbild die kristallographische Orientierung einzelner Domänen senkrecht zur Oberflächennormalen. Es konnten vier Hauptorientierungen bestimmt werden: {10.4}, {00.1}, {01.2} und {01.8}. Diese Ergebnisse stimmen sehr gut mit den Erkenntnissen aus der Polscope-Mikroskopie überein (vgl. Abb. 3.16). Jedoch bleibt anzumerken, dass einige Bereiche der ESBD-Karte nicht sinnvoll indiziert werden konnten. Dabei handelt es sich insbesondere um Bereiche, die im gezeigten Bild nicht durch eine einheitliche Farbe dargestellt werden, sondern eine Gradienten aufweisen. In diesem Fall hat sich kristalline Dünnfilm während der Probenpräparation wahrscheinlich leicht von der Substratoberfläche abgelöst. Dies hat zur Folge, das die Indizierung der

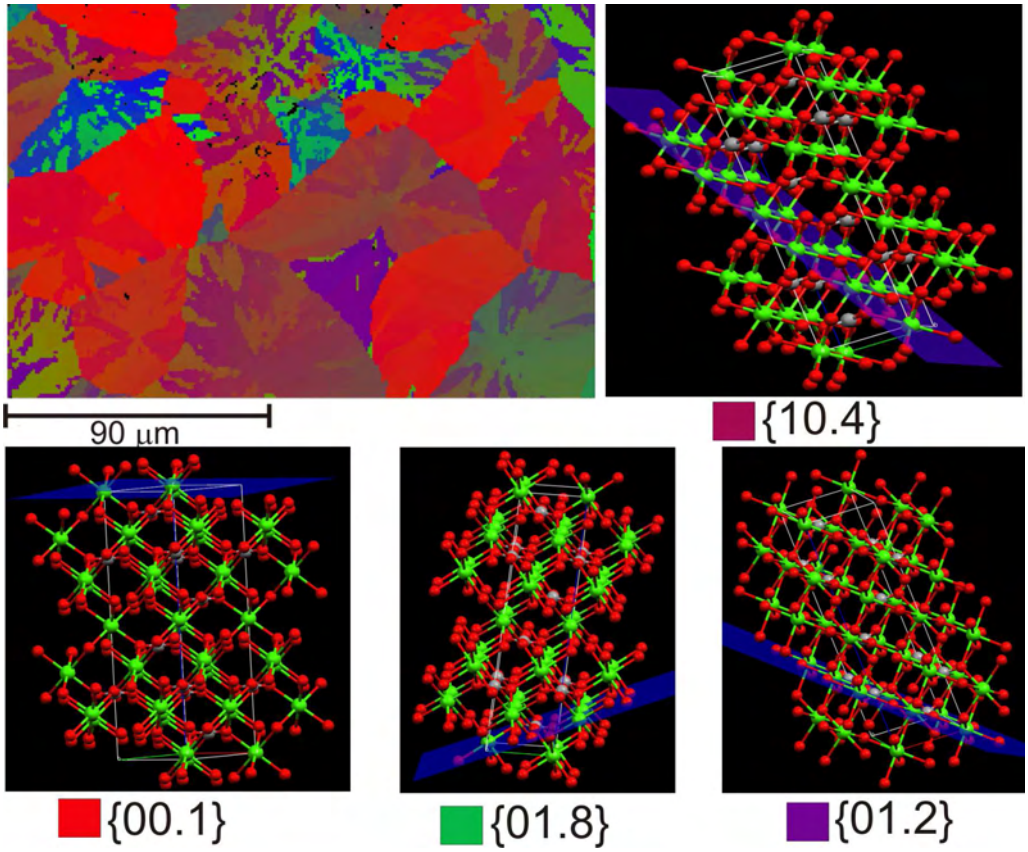

Abbildung 3.15.: Orientierungskarte von kristallinen Domänen des polykristallinen Calcitfilms. Farbige Ausschnitte sind einzelnen kristallographischen Orientierungen zugeordnet. Für die gezeigten Orientierungen sind entsprechende Ebenen in die Calcit-Einheitszelle eingefügt worden.

erhaltenen Kikuchi-Linien zu keinen sinnvollen Werten führt.

Die digitale Bildanalyse von Polarisationsmikroskop-Aufnahmen, bei denen der polykristalline Calcitdünnfilm zwischen gekreuzten Polarisatoren photographiert wurde, ergibt, dass jeder individuellen Domäne ein nahezu konstanter Grauwert zugeordnet werden kann (vgl. Abb. 3.16). Dieses Verhalten ist leicht zu verstehen, wenn man annimmt, dass jede Domäne aus einem Calciteinkristall besteht, dessen Orientierung sich von der seines Nachbarn unterscheidet und der aus einem singulären Keimbildungs-

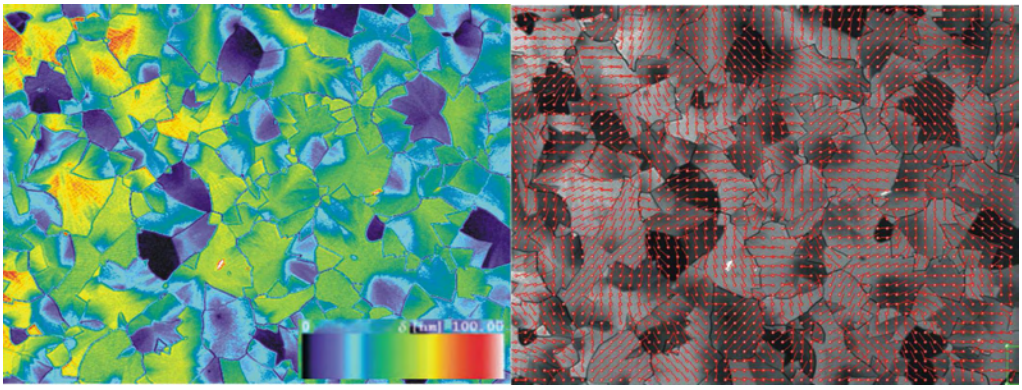

Abbildung 3.16.: Polmikroskopische Aufnahmen eines polykristallinen Calciumcarbonat-Dünnfilms (links). Rechts ist eine Grauwert-Abbildung des Gangunterschiedes mit einer Überlagerung von kurzen Linien dargestellt, die die Richtung der langsamen optischen Achse an mehreren Punkten der Probe kennzeichnen. (Die Darstellung der langsamen Achse erfolgte hier für jeden zehnten Bildpunkt in der horizontalen und vertikalen Richtung des ursprünglichen Videobildes). Es wird deutlich, dass sich die δ-Werte von Domäne zu Domäne abrupt ändern [129].

vorgang während der Umwandlung des amorphen Vorläuferfilmes hervorgeht. Um die Einkristallnatur der Domänen zu belegen, wurden $CaCO_3$-Aufwuchsexperimente durchgeführt, wobei der polykristalline Dünnfilm als iso-epitaktisches Substrat fungierte [2]. Zu diesem Zweck, wird ein mit einem polykristallinen Dünnfilm beschichtetes Glassubstrat einem kontinuiertlichem Strom einer übersättigten $CaCO_3$-Lösung ausgesetzt, die nun allerdings keinen PAA Inhibitor enthielt. Auf der Oberfläche des polykristallinen Dünnfilmes bildeten sich einfache und mehrschichtige Lagen aus hoch orientierten Calcitkristallen, die zu einem erkennbaren Irisieren der Probe führten. Markierte Flächen von polykristallinen Dünnfilmen wurden darauf-

[2] Diese Technik wurde auch von anderen Arbeitsgruppen angewendet, um die Kristallorientierung in biogenen Kristallen zu bestimmen, bei denen wegen der Vorliegens einer Nichtgleichgewichtsmorphologie klar erkennbare Kristallgrenzflächen fehlen [131, 132].

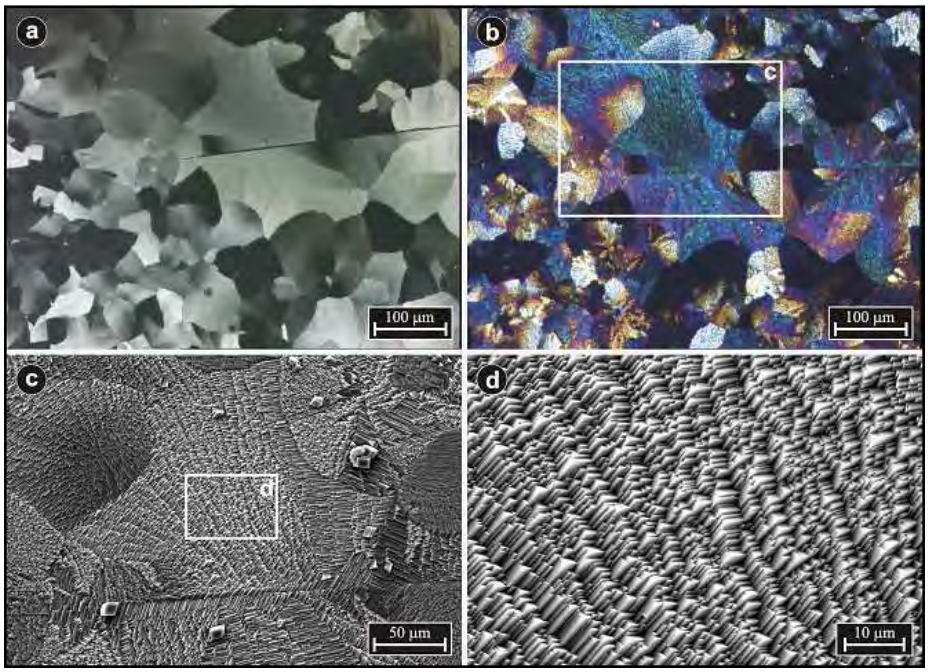

Abbildung 3.17.: Optische und elektronenmikroskopische Aufnahmen derselben Region eines polykristallinen Vorläuferfilms vor und nach Aufwuchsexperimenten. Es wird deutlich, dass die Grundierung aus flachen Einkristallen die Orientierung der aufwachsenden Kristallite dirigiert.

hin vor und nach dem Calcitbewuchs mit Polarisations- und Rasterelektronenmikroskopie näher untersucht (vgl. Abb. 3.17). Die Aufnahmen lassen klar erkennen, dass die Grundierung aus flachen Calcitdomänen die Orientierung der aufwachsenden Calcitkristallschicht dirigiert. Die Kristalltextur ändert sich abrupt an der Grenzlinie zwischen benachbarten Domänen, innerhalb einer individuellen Domäne bleibt sie jedoch bestehen.

In vielen Domänen sind Calcitkristalle zu Stapeln aus perfekt koorientierten Plättchen miteinander verwachsen. Da die rhomboedrische Kristallmorphologie von Calcit in allen Fällen erhalten bleibt, sind die Wachstumsrichtungen in unterschiedlichen Domänen leicht zu bestimmen [3]. Abbildung

[3]Die Projektion von Rhomboederflächen auf eine Bildebene ergibt charakteristische

aufwuchs2.tif

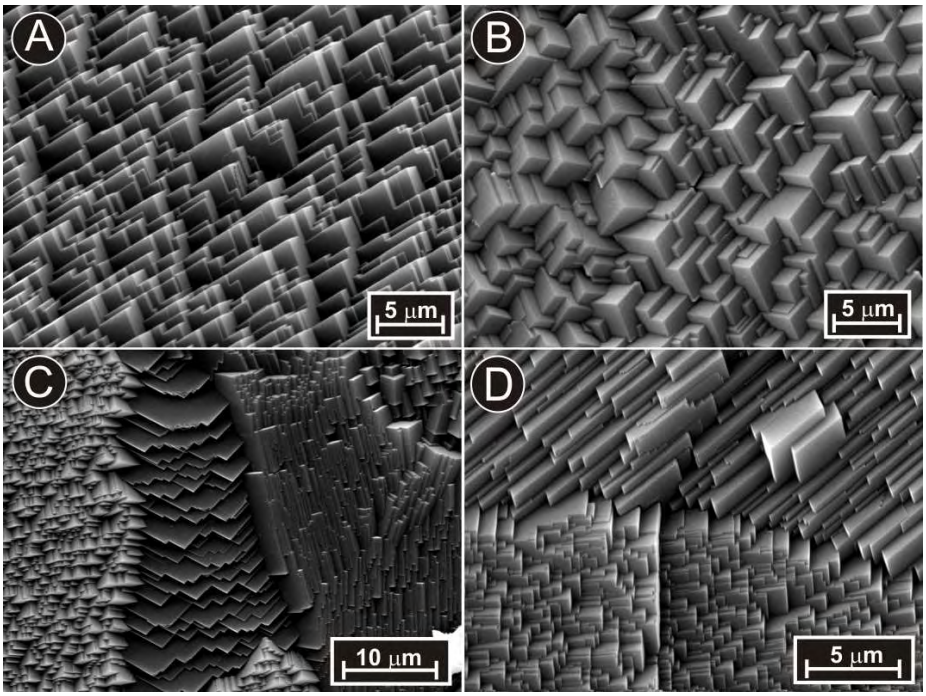

Abbildung 3.18.: SEM-Aufnahmen von aufgewachsenem Calcit auf einem polykristallinen Dünnfilm. Deutlich ist die einheitliche Orientierung innerhalb einer Domäne (A, B) sowie der scharfe Wechsel von Kristallorientierungen an den Domänengrenzen zu erkennen (C, D).

(3.18) zeigt repräsentative Details von orientierten Kristallschichten, die in der beschriebenen Weise erhalten wurden.

Wird der Aufwuchs der Calcitschicht auf den polykristallinen Dünnfilm nach 45 Minuten unterbrochen, haben die Kristalle eine enge Größenverteilung mit einer durchschnittlichen Kristalldicke von 700 bis 1200 nm (vgl. Abb. 3.18). Es wird angenommen, dass die Kombination aus mesoskopi-

Flächenwinkel, auf deren Basis unterschiedliche Kristallorientierungen in vielen Fällen bestimmt werden könnnen. Es ist jedoch zu beachten, dass diese Methode nur dann zuverlässige Ergebnisse liefert, wenn die Probe exakt senkrecht zur Beobachtungsrichtung orientiert ist und dabei gleichzeitig die perspektivischen Verzerrungen des optischen Systems minimiert werden [133].

scher Größe und parallel-periodischer Anordnung der Kristalle zum irisierenden Glanz der Proben führt. Für tiefere Einblicke in die strukturdirigierende Funktion der polykristallinen $CaCO_3$-Dünnfilme, die sich aus dem amorphen Vorläuferfilm bilden, wurde ein neuartiges Bildverarbeitungssystem zur Charakterisierung der optischen Doppelbrechung angewendet (LC-PolScope) [134, 135]. Mit diesem Messsystem können Gangunterschied und Ausrichtung der langsamen optischen Kristallachse visualisiert und innerhalb weniger Sekunden für jeden Bildpunkt des *charge-coupled-device*(CCD)-Sensors quantitativ bestimmt werden. Da Calcit ein optisch einachsiges, doppelbrechendes Material ist, hängt der Gangunterschied für ein flaches Calcitplättchen nur von der Dicke der Probe und der Orientierung der kristallographischen *c*-Achse (=optische Achse) in Bezug auf die Richtung des durch die Probe fallenden, polarisierten Strahlenbündels ab. Der Gangunterschied d (in nm) für ein gleichförmig dünnes Calcitplättchen ist gegeben durch Gleichung (3.1) [136],

$$\sigma = \rho(n_e - n_0)sin^2\theta \tag{3.1}$$

wobei θ der Winkel zwischen der optischen Achse und der Ausbreitungsrichtung des Lichtstrahls ist, ρ (in nm) die Dicke des Kristallplättchens und (n_e - n_o) der Wert für die optische Doppelbrechung von Calcit (ca. -0.174 bei $\lambda = 546.5$ nm)[137] (vgl. hierzu auch Abschnitt 2.3.3). Durch simultane Messung des Gangunterschiedes für viele unterschiedliche Calcitdomänen erhält man daher eine Information über die relative Häufigkeit, mit der verschiedene Kristallorientierungen in dem polykristallinen Dünnfilm auftreten, der aus der amorphen Vorstufe hervorgeht. Bedauerlicherweise ist die Zuordnung des Wertes zu einer kristallographischen Orientierung bei optisch einachsigen Materialien nicht eindeutig. Es ist aber möglich, Erwartungswerte des Gangunterschiedes für verschiedene Calcitkristallorientierungen zu berechnen; vorzugsweise für solche, die in Calcitaufwuchsexpe-

rimenten häufig beobachtet werden. Abbildung (3.16) zeigt eine Pseudofarbdarstellung des Gangunterschiedes δ in einem polykristallinen Dünnfilm, der mit dem LC-PolScope an jedem Bildpunkt gemessen wurde. Es ist unmittelbar ersichtlich, dass sich der experimentelle δ-Wert von Domäne zu Domäne ändert, innerhalb einer individuellen Domäne jedoch einen konstanten Wert annimmt. (Einige Calcitdomänen zeigen eine optisch zweiachsige Doppelbrechung, die aber vermutlich durch Spannungen induziert wird, die beim Schrumpfen der Probe während des Trocknens und der Umwandlung des hydratisierten amorphen Vorläufers in den wasserfreien polykristallinen Dünnfilm entstehen.) Die am häufigsten beobachteten Gangunterschiede betragen 80($\pm$5), 49 ($\pm$4), 20 ($\pm$3), 15 ($\pm$2) und 0 ($\pm$2) nm. Die dazu am besten passenden berechneten Gangunterschiede sind 82.1 {01.2}, 50.9 {10.4}, 20.2 {10.10}, 13.6 {01.8}, und 0 nm {00.1} für eine Probendicke von 600 nm (wobei die Kristallfläche, die parallel zum Glassubstrat, d. h. senkrecht zum Lichtstrahl orientiert ist, in geschweiften Klammern angegeben ist)[4]. Abbildung (3.16) zeigt denselben Ausschnitt des Dünnfilmes, wobei die Richtung der langsamen Achse der Doppelbrechung an mehreren Punkten durch kleine Vektorsymbole gekennzeichnet ist. Auch hier ist festzustellen, dass die meisten Domänen innerhalb des Dünnfilmes eine einheitliche Orientierung aufweisen. Die LC-PolScope-Abbildungen der polykristallinen Calcitdünnfilme lassen zwei wichtige Eigenschaften erkennen: Zum einen gibt es starke Hinweise darauf, dass die polykristallinen Calcitdünnfilme tatsächlich aus flachen Einkristallen bestehen. Die Kristallorientierung wechselt an den Domänengrenzen, insgesamt wird jedoch im

[4]Da die optische Achse im Calcit mit der kristallographischen c-Achse zusammenfällt, kann der Winkelparameter ϑ erhalten werden, indem Winkel aus Paaren von (00.1)- und (hk.l)-Kristallebenen berechnet werden, die über ihre Millerschen Indices beschrieben werden. Die Berechnungen können mit frei zugänglicher Software durchgeführt werden, die zu finden ist unter: http://www.jcrystal.com/steffenweber/JAVA/juvw/JCELL.html (Parameter der Calcitelementarzelle: a=b=4.988, c=17.068 $\AA, \alpha = \beta = 90^o, \gamma = 120^o$. Vollständige analytische Ausdrücke finden sich in [138]

Einklang mit den Ergebnissen der Röntgenbeugungsexperimente keine bestimmte Orientierung stark bevorzugt. Zum anderen zeigt sich, dass die experimentell ermittelten Gangunterschiede mit den berechneten Werten hervorragend übereinstimmen, wenn man Kristallorientierungen zugrunde legt, die in Aufwuchsexperimenten beobachtet werden (vgl. Abb. 3.17 und 3.18). Aus diesen experimentellen Befunden lässt sich folgern, dass der Calcitaufwuchs höchstwahrscheinlich iso-epitaktisch erfolgt. Dieses Ergebnis ist ein wenig überraschend, wenn man bedenkt, dass der zugrundeliegende polykristalline Dünnfilm eine mesoskopische Oberflächenrauhigkeit aufweist (Abb. 3.12).
Über die Herstellung biologisch inspirierter Laminate, die das Architekturprinzip von Perlmutt, wenn auch auf kürzeren Längenskalen, imitieren, wurde vor kurzer Zeit berichtet [139, 140]. In Gegenwart von PAA wurden unter Langmuir - Monoschichten amorphe $CaCO_3$ - Dünnfilme erhalten [141], deren Bildung *in situ* am Synchrotron mit Hilfe von Reflektivitätsstudien untersucht wurde [142]. Der Einfluss funktioneller Gruppen aus Biopolymeren auf die Bildung von $CaCO_3$-Dünnfilme wurde ebenfalls untersucht [143]. Es wurde demonstriert, dass sich Aragonitdünnfilme in Gegenwart von Mg^{2+}-Ionen und Poly(asparaginsäure) auf Chitosan-Matrices abscheiden lassen [57]. Bislang hat keiner dieser Ansätze zu hoch orientierten lamellierten Kristallarchitekturen geführt, die mit den in dieser Arbeit vorgestellten vergleichbar wären. Diese Untersuchungen zeigen, dass perlmuttartige $CaCO_3$-Dünnfilme und - Beschichtungen über einen morphosynthetischen Ansatz [144] realisierbar sind und dass hierfür keine präorganisierte organische Matrix benötigt wird. Die wesentlichen Schritte beruhen auf der Umwandlung eines amorphen $CaCO_3$-Vorläuferfilmes in einen polykristallinen Calcitdünnfilm, der wiederum als Templat für das epitaktische Aufwachsen von hoch orientierten Schichten aus gleichförmigen Calcitplättchen wirkt. Diese Strategie führt zu einem generellen und technisch praktikablen Zugang zu

hoch geordneten Materialien, die aus Mikrokristallen mit typischen Abmessungen von einigen zehn bis einigen hundert Nanometern bestehen. Solche Materialien könnten für technische Anwendungen in der Photonik äusserst interessant sein, z.B. für Beugungsgitter [145], photonische Bandlücken - Materialien [146] oder für farbige, auf Strukturfarben anstelle von Pigmenten basierende Beschichtungen [147]. Im Hinblick auf ein tieferes Verständnis der Bildung hoch organisierter Kristalltexturen in Organismen könnten unsere Untersuchungen zu einem alternativen Konzept führen, das der allgemein akzeptierten Theorie einer strukturdirigierenden Funktion organischer Template in der Biomineralisation entgegensteht: Es wäre demnach vorstellbar, dass hoch organisierte Kristallarchitekturen, wie das Perlmutt oder die prismatische Calcitschicht, spontan wachsen, sobald sich eine erste Kristallschicht gebildet hat, auch ohne dass weitere ausgeklügelte Kontrollmechanismen dazu notwendig wären [148]. Allerdings ist die Umwandlung einer amorphen Vorstufe in eine Kristallphase ein Schlüsselschritt, der auch bei vielen natürlichen Biomineralisationsvorgängen auftritt. Die Mechanismen, durch die diese spezielle Umwandlung in Organismen gesteuert wird, sind noch weitgehend unbekannt [25].

3.4. Darstellung von Calciumcarbonat-Überstrukturen

Im folgenden Teil wird ein Versuchsansatz vorgestellt, der zu orientierten Calciumcarbonat-Überstrukturen führt. Die im Laufe dieses Experimentes gewonnenen Erkenntnisse weisen auf einen neuartigen Mechanismus während der Kristallisation hin, der in Teilen dem klassischem Biomineralisationsmodell von S. Mann widerspricht [149].

3.4.1. Abscheidung von Nylon(6.6)-Dünnfilmen

Die Wahl des Kristallisationzusatzes beruht auf Vorversuchen, die mit einer Reihe von Nylon(m.n)-Oligoamiden[5] durchgeführt wurden [96]. Zunächst wurden Nylon(6.6)-Einkristalle gezüchtet, um weitere Strukturinformationen bezüglich der Packungsmotive und H-Brückensysteme zu erhalten. Die Einkristallröntgenstrukturanalyse von Nylon(6.6)-Kristallen zeigt, dass die Moleküle in einer *all*-trans Konfiguration vorliegen und eine lamellare Schichtstruktur ausbilden. Es treten zwei unterschiedliche Wasserstoffbrückenbindungssysteme auf: Zum einen werden die einzelnen Moleküle über H-N-Brücken innerhalb einer Schicht verknüpft, zum anderen über COOH-Brücken. Zwischen den einzelnen Schichten existieren nur schwache van-der-Waals-Wechselwirkungen (vgl. Abb. 3.19).

Aufgrund dieser Erkenntnisse kann vermutet werden, dass diese Molekülgruppe stabile Mono- oder Multischichten ausbildet, wobei die Molekülachse auf polaren Substraten senkrecht zur Oberfläche orientiert sein sollte. Da der O$\cdots$O-Abstand eines *all*-trans Moleküls 25.8 $\AA$ beträgt, sollten AFM - Untersuchungen Schichtdicken in dieser Größenordnung bestätigen. Wahr-

[5] Nylon(m.n)-Oligomere haben die allgemeine chemische Formel: HOOC-$(CH_2)_n$-(CO)-NH-$(CH_2)_m$-NH-(CO)-$(CH_2)_n$-COOH. Das intermolekulare H-Brückensystem hängt ausschließlich von den jeweiligen Werten für m,n ab.

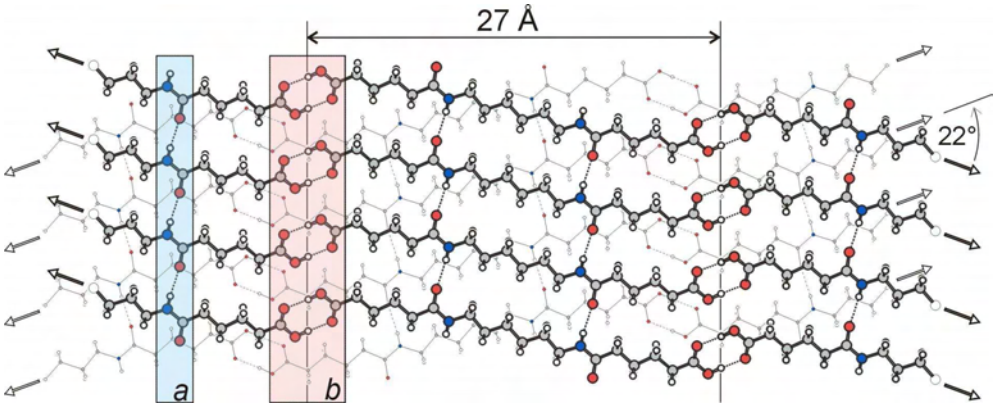

Abbildung 3.19.: Kristallpackung der Nylon(6.6)-Moleküle mit Blick auf die $(40\bar{1})$-Ebene ($d_{40\bar{1}} = 7.29$ Å).

scheinlich sind die Moleküle relativ zur Oberflächennormalen leicht gekippt, was dann zu einer geringeren Schichtdicke führen sollte. Ausgehend von diesen Annahmen würde eine Substratoberfläche erhalten werden, die mit Carboxylatgruppen gesättigt ist. Der Abstand der Säurefunktionen ist durch die Packung der Moleküle in der Monoschicht fest vorgegeben, somit sollten sich derart beschichtete Substrate als ideale Template eignen, um die Wechselwirkungen zwischen organischer Matrix und aufwachsenem Kristall zu studieren.

In einem typischen Experiment werden 10 mM $CaCl_2$- und Na_2CO_3- Lösung in Anwesenheit von Nylon(6.6) in der Durchflusszelle vereinigt. AFM-Untersuchungen von Proben, die nach 30 sec und 1 min aus dem System entnommen wurden, zeigen die Bildung einer netzartigen Struktur. Der erhaltene Dünnfilm hat eine Dicke von etwa 1.8 - 2.2 nm, was recht gut mit den Ergebnissen aus der Röntgenstrukturanalyse übereinstimmt (vgl. Abb. 3.20). Die etwas geringeren Werte sind vermutlich darauf zurückzuführen, dass die Molekülachse relativ zur Oberflächennormalen gekippt ist. Durch die AFM-Spitze könnte ausserdem während des Messvorgangs eine Stau-

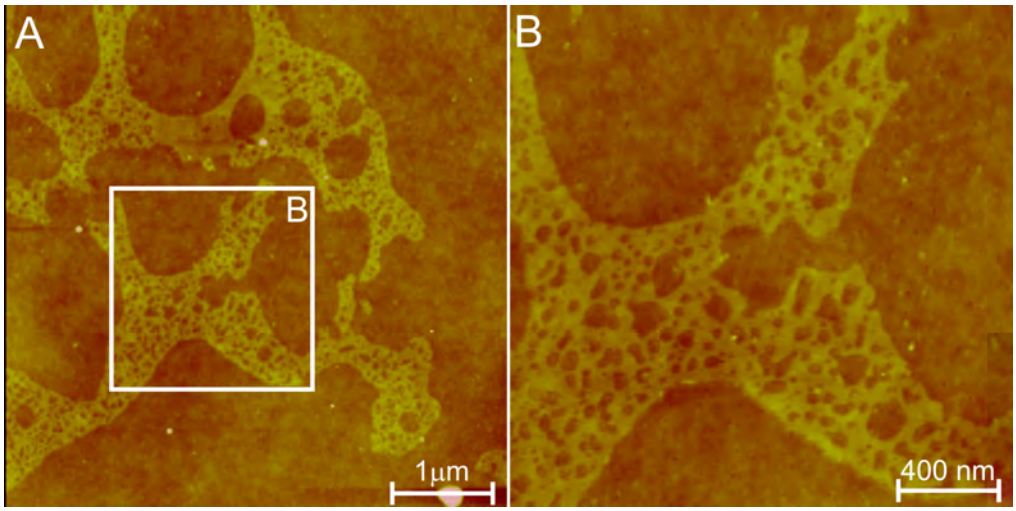

Abbildung 3.20.: AFM-Abbildungen von Nylon(6.6)-Filmen auf einer Glasoberfläche. Deutlich kann die netzwerkartige Struktur der Filme erkannt werden. Die Schichtdicke der abgebildeten Monoschicht liegt im Bereich 1.8 - 2.2 nm ($h_{max} = 5$ nm).

chung der Schichten verursachen. Die erhaltenen Dünnfilme bilden keinen kontinuierlichen Film auf der Glasoberfläche. Die Beschichtungsexperimente wurden sowohl auf Glas- als auch auf Siliciumoberflächen durchgeführt. Es wurde festgestellt, dass sich auf beiden Trägern gleiche Filmstrukturen bilden. Um den Einfluss von Ca-Ionen zu untersuchen, wurden die Dünnfilme in Gegenwart von $CaCl_2$ abgeschieden, was keinen ersichtlichen Einfluss auf die Filmdicke oder die zuvor beobachteten Netzwerkstrukturen hat. Jedoch scheint der Oligoamid-Dünnfilm Ca-Ionen zu akkumulieren, denn anhand von Phasenanalysen der AFM-Messungen wird deutlich, dass der Dünnfilm in Gegenwart von Ca^{2+}-Ionen härter erscheint (vgl. Abb. 3.21): Ein Nylon(6.6)-Dünnfilm, der in Gegenwart von Calcium-Ionen abgeschieden wurde, erscheint im Phasenbild heller. Daraus lässt sich folgern, dass dieser Bereich ein größeres Elasitzitätsmodul (E^*) besitzt und damit eine höhere Steifigkeit aufweist.

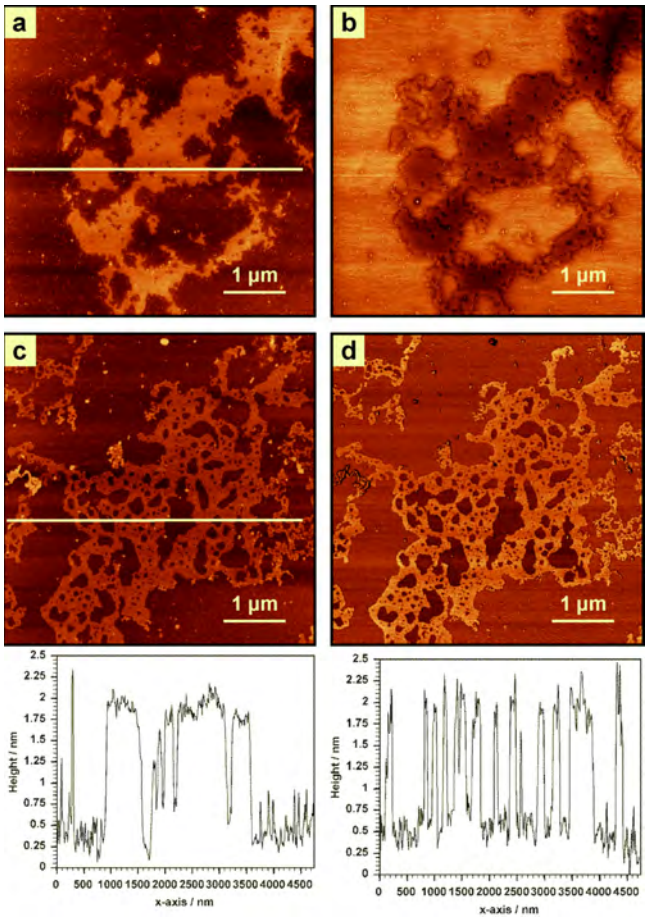

Abbildung 3.21.: AFM-Abbildungen einer Nylon(6.6)-Monoschicht. Die Filme wurden auf Silicium - Oberflächen abgeschieden. Die Abscheidung erfolgte zum einen in Gegenwart von Ca-Ionen (unten) und zum anderen in Abwesenheit von Ca-Ionen (oben). Anhand der zugehörigen Höhenprofile ist erkennbar, dass Ca-Ionen keinen Einfluss auf die Schichtdicke haben. Diese liegt in beiden Fällen im Bereich von 1.8 - 2.2 nm. Aus einem Vergleich der Phasenbilder (b,d) wird deutlich, dass Dünnfilme, die in Gegenwart von Ca^{2+}-Ionen gewachsen sind, heller erscheinen. Daraus folgt, dass dieser Bereich ein größeres Elasitzitätsmodul (E^*) besitzt und damit eine höhere Steifigkeit aufweist.

3.4.2. Bildung des crystallization-inducing-thin film (CIT)

Direkt nach Bildung der Nylon(6.6)-Monoschicht scheidet sich auf dieser ein weiterer Film ab. Die Schichtdicke dieses dicht gepackten Dünnfilms beträgt 8 - 15 nm, wobei in frühen Stadien (< 1 min) mit Hilfe von AFM-Messungen eine Schichtdicke von 4 - 8 nm gemessen wurde. Weiterhin wurde beobachtet, dass orientiertes Kristallwachstum ausschließlich auf diesem zweiten Film stattfindet, daher wird der Film im Folgenden als *crystallization-inducing-thin film* (CIT) bezeichnet. Der CIT wächst in lateraler Richtung, bis eine Ausdehnung von etwa 2 - 5 μm erreicht ist. Gleichzeitig beginnt orientiertes Kristallwachstum auf der Oberfläche dieses Dünnfilms. Über die Zusammensetzung des CIT lässt sich bis jetzt bedauerlicherweise nur spekulieren. Leider existieren zur Zeit keine zugänglichen Messmethoden, um Strukturen in diesen Größenordnungen (≤ 10 nm) chemisch ausreichend zu charakterisieren. Vermutlich besteht der CIT aus einer ACC-Phase oder aus einem CC/Nylon(6.6)-Komposit. Eine Analyse der Oberflächenrauhigkeit ergibt einen RMS-Wert von 0.6 nm. Verglichen mit ACC-Schichten aus Abscheidungen von CC in Gegenwart von PAA ist dieser Wert sehr gering. Zusammenhängende Filme aus ACC-Partikeln weisen Rauhigkeiten auf, die um 16 nm liegen (vgl. Kapitel 3.3). Dieses Ergebnis deutet an, dass der CIT eine andere Zusammensetzung haben könnte. Eine Phasenbildanalyse zeigt drei unterschiedliche Bereiche, die verscheidenen Topographien zugeordnet werden können (vgl. Abb. 3.22). Der Bereich geringster Höhe entspricht dem dunkelsten Bereich im Phasenbild und wird der Glasoberfläche zugeordnet (Bez. mit 1 in Abb. 3.22). Hellere Regionen (bezeichnet mit 2) entsprechen einer Höhe von etwa 2 nm und können dem Nylon(6.6)/Ca^{2+} zugeordnet werden.

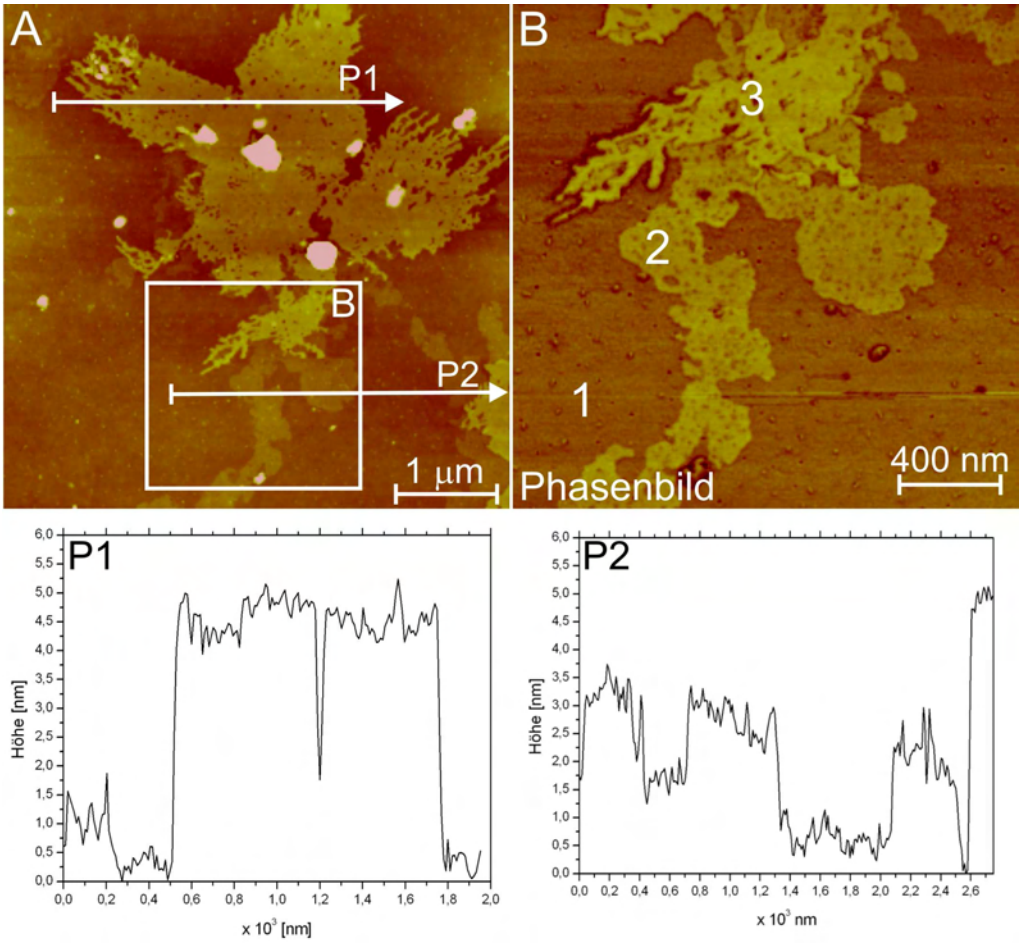

Abbildung 3.22.: AFM-Abbildungen von Probenbereichen, die sowohl von Nylon(6.6)-Monoschichten als auch von einem CIT bewachsen sind. (A) zeigt ein Höhenbild eines ausgewählten Probenbereiches, wobei (P1) und (P2) die unten dargestellten Höhenprofile bezeichnen. Der Ausschnitt (B) zeigt das zugehörige Phasenbild. Die unterschiedlichen Topographien sind mit 1 - 3 beschriftet: 1, Glasoberfläche; 2, Nylon(6.6)-Monoschicht; 3, aufwachsender CIT.

Der CIT erscheint im Phasenbild am hellsten (bezeichnet mit 3). Daraus folgt, dass dieser sich in der Zusammensetzung deutlich vom Nylon(6.6) / Ca^{2+}-Dünnfilm unterscheidet. Da sowohl das Elastizitätmodul als auch die Kontaktfläche (Adhäsion) die Phasenverschiebung bestimmen, können nur qualitative Aussage gemacht werden. Eine genaue Differenzierung zwischen der Materialsteifigkeit und den adhäsiven Eigenschaften wird durch den *Pulsed-Force-Mode* ermöglicht. Diese Methode stand bis zur Fertigstellung dieser Arbeit jedoch nicht zur Verfügung.
Hochauflösende SEM-Aufnahmen bestätigen diese Ergebnisse und zeigen die glatte Oberflächenstruktur des CIT (vgl. Abb. 3.23). Über die chemische Zusammensetzung des Dünnfilms geben diese Methoden jedoch keine Auskunft. Da nachfolgend die Bildung von orientierten Nanokristallen mit einem Durchmesser von 30 - 50 nm beobachtet wird, muss angenommen werden, dass der CIT einen dirigierenden Einfluss ausübt.

Ein Einfluss der gelösten Nylon(6.6)-Oligomere kann ausgeschlossen werden, da Bereiche der Probe ohne Nylon(6.6)/CIT von {10.4}-Calcitrhomboedern bewachsen werden, die keinerlei Defekte aufweisen. Aufgrund dieses dirigierenden Effektes des CIT und der AFM-Phasenbildanalyse können einige Hypothesen bezüglich der chemischen Zusammensetzung gemacht werden: (a) Der CIT besteht nicht aus reinem Nylon(6.6)-Oligomer, da die Phasenunterschiede den CIT deutlich vom unterliegenden Nylon(6.6)-Film abgrenzen. Zudem ist der Nylon(6.6)-Dünnfilm *weicher* als der darüberliegende CIT, was aus den Phasenbildanalysen deutlich hervorgeht (vgl. Abb. 3.24 und 3.25). (b) Gegen einen hohen ACC-Anteil spricht, dass sich keine bekannte Partikelstruktur erkennen lässt. Auch das gleichzeitige Auftreten von ACC-Partikeln an Randbereichen der Probe spricht gegen diese Möglichkeit. Jedoch kann man nicht völlig ausschließen, dass der CIT einen Anteil an amorphem Calciumcarbonat besitzt. (c) Weiterhin kann man annehmen, dass der CIT aus einem Nylon(6.6)-CC-Komposit besteht. Ansätze zur Bil-

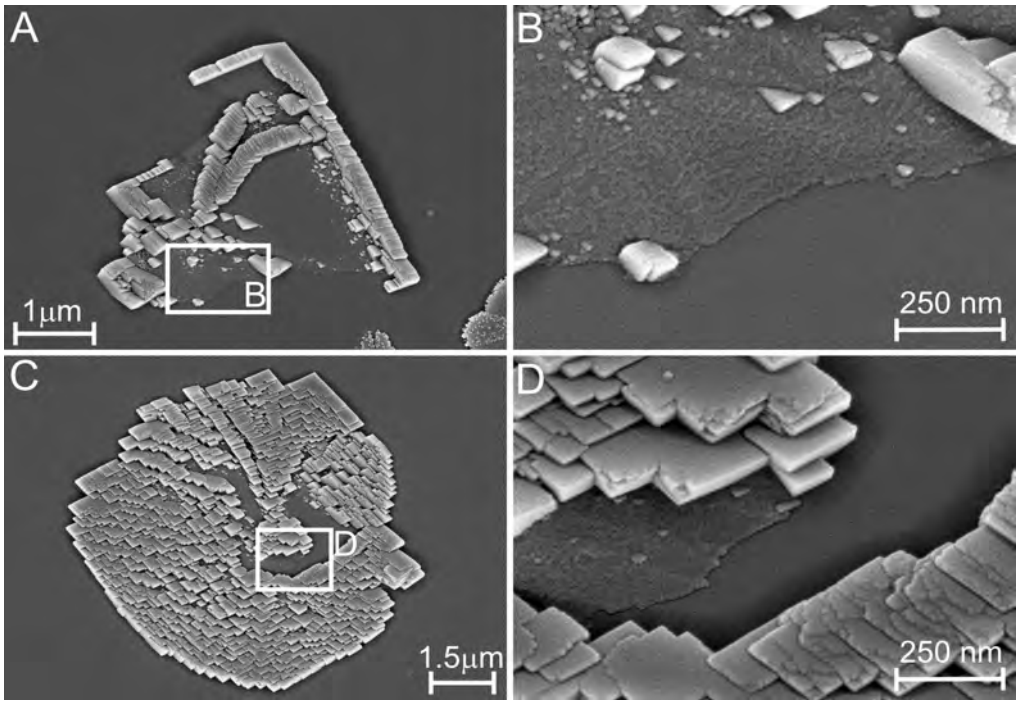

Abbildung 3.23.: SEM Aufnahmen von orientiertem Calcitwachstum auf dem CIT. In Bild (B) und (D) ist deutlich der zugrunde liegende CIT zu erkennen, auf dem das Kristallwachstum stattfindet.

dung von Multischichten könnten zu einer verstärkten Akkumulation von Ca-Ionen führen, was wiederum in einer homogen CC - Schicht resultiert. (d) Denkbar ist auch, dass es sich hier um einen einkristallinen Calcit-Film handelt, was auch den Effekt eines homogenen Calcitaufwuchses erklären könnte. Der dirigierende Einfluss des CIT begründet sich dann ausschließlich auf elektrostatische Wechselwirkungen. Ein Templateffekt im Sinne der geometrischen Übereinstimmung oder Epitaxibeziehungen zwischen den Carbonsäurefunktionen der Nylon(6.6)-Monoschicht und dem aufwachsenden Kristall, könnte ausgeschlossen werden. Der beobachtete Effekt wäre vermutlich dem perlmuttartigen Aufwuchs von Calcit auf polykristallinen Filmen sehr ähnlich (vgl. Kapitel 3.3).

3.4.3. Aufwuchs von Calcit auf dem CIT

Die Kristallisation von Calcit auf dem CIT wurde durch AFM- und SEM-Messungen dokumentiert. Diese Untersuchungen belegen eindeutig, dass orientiertes Kristallwachstum ausschließlich auf dem CIT stattfindet. Weiterhin zeigen diese Untersuchungen, dass einige Bereiche der Probenoberfläche mit kugelförmigen Partikeln bedeckt sind, die strukturell amorphen Calciumcarbonatpartikeln ähneln. Diese Partikel haben einen für ACC-Sphärulite typischen Durchmesser von etwa 25 - 40 nm und finden sich sporadisch in äusseren Probenbereichen (vgl. Anhang 5). Kristallisation von Calciumcarbonat wurde nicht auf diesen ACC-Bereichen beobachtet. Jedoch fanden sich vereinzelte Beispiele, in denen die ACC-Bereiche von einem CIT überwachsen wurden. Ist dies der Fall, so findet - wiederum ausschließlich auf dem CIT - orientierte Kristallisation von Calcit statt. Die ACC-Partikel bilden sich vermutlich in Lösung, in der sie durch das zugegebene Additiv stabilisiert werden. Anschließend kommt es durch Strömungseffekte in der Durchflusszelle zu einer Ablagerung dieser Partikel.

Weiteres Kristallwachstum auf dem CIT führt zu diskreten kristallinen Bereichen mit einem Durchmesser von 10 - 30 μm (vgl. Abb. 3.25). Diese Strukturen bestehen aus einheitlich orientierten Calcitkristallen, deren kristallographische Orientierung von Struktur zu Struktur variieren kann. Durch Raman-Spektroskopie (vgl. Anhang 5) wurde eindeutig nachgewiesen, dass es sich hier um das Polymorph Calcit handelt. Andere Polymorphe konnten nicht nachgewiesen werden. Die entstehenden kristallinen Strukturen weisen größtenteils $\{10.4\}, \{01.2\}$ und $\{00.1\}$ Orientierungen auf[6]. In einem weiteren Wachstumsschritt bilden sich am Rand dieser kristallinen Domänen Bereiche ringförmig angeordneter Calcitkristalle mit derselben Orientierung, wie der zugrunde liegende Kristallbereich (vgl. Abb 3.26).

[6]Die Orientierung wurde durch Auswertung der Kristallwinkel auf SEM-Bildern ermittelt.

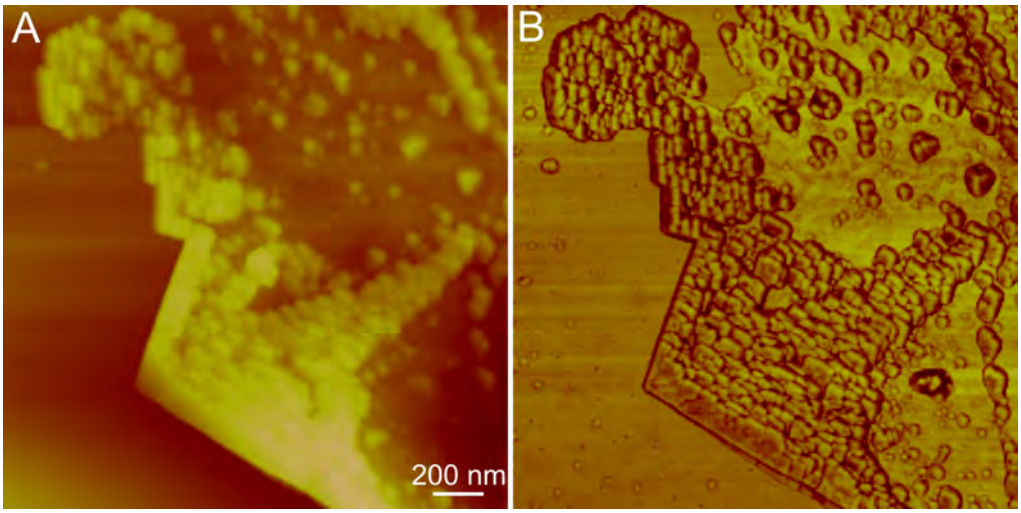

Abbildung 3.24.: AFM Bild (links: Höhenbild, rechts: Phasenbild) eines Probenbereichs mit CIT, auf dem orientiertes Kristallwachstum stattfindet.

Dieser ringförmige Aufwuchs kann durch Diffusions- und Strömungseffekte erklärt werden. Der stetige Strom von übersättigter Calciumcarbonat-Lösung führt an den kristallinen Bereichen zur einer lokalen Übersättigungen bzw. zu einer verminderten Strömungsgeschwindigkeit, was das Kristallwachstum am Rand der kristallinen Bereiche begünstigt.

Der hier beschriebene Mechanismus lässt sich in drei Schritten zusammenfassen: (a) Die Adsorption einer Nylon(6.6)-Monoschicht auf einer polaren Oberfläche führt zur Bildung von netzartigen Strukturen: Die Nylon(6.6)-Molekülachse steht annähernd senkrecht auf der Substratoberfläche, was zu einer mit Carboxylatgruppen angereicherten Oberfläche führt. (b) Aufgrund der Anwesenheit von Carboxylatgruppen kommt es in einem zweiten Schritt zum Wachstum eines zweiten Films auf der Nylon(6.6)-Monoschicht. Es bildet sich ein *crystallization-inducing-thin film* (CIT), über dessen chemische Zusammensetzung sich bisher nur spekulieren lässt. Dieser Film induziert orientiertes Kristallwachstum und scheint selber als struktur-dirigierendes Templat zu wirken. Stetiges Wachstum von Kristallen auf dem CIT resul-

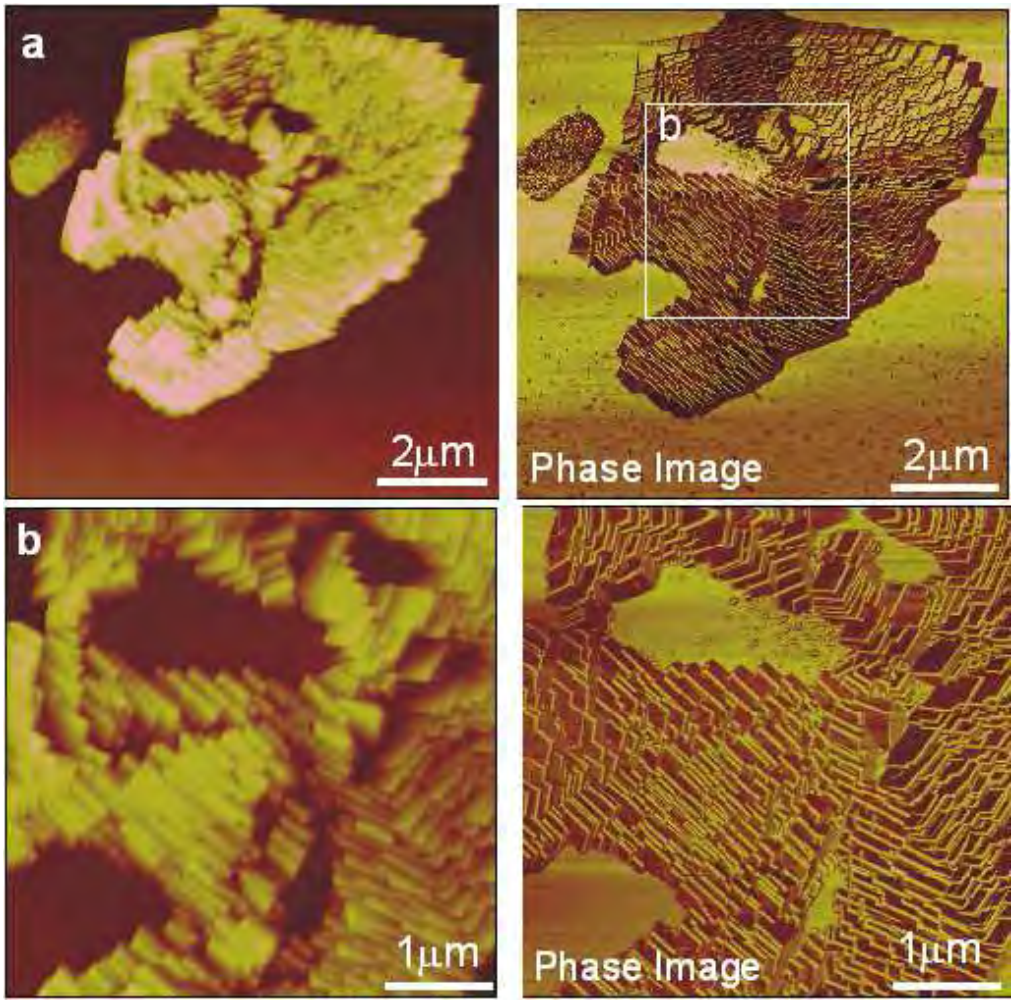

Abbildung 3.25.: AFM-Bilder von kristallinen Domänen, die auf einem CIT aufgewachsen sind. Links: Höhenbild, rechts: Phasenbild

tiert in einer kristallinen Domäne, die aus einheitlich orientierten Calcitkristallen aufgebaut ist. (c) Abschließend wachsen am Rand dieser kristallinen Domäne ringförmig Calcitkristalle auf. Dieser Effekt ist vermutlich durch Strömungseffekte in der Durchflusszelle zu erklären.
Dem CIT kommt hierbei eine Schlüsselrolle zu. Allein dieser Dünnfilm scheint dafür verantwortlich zu sein, dass orientiertes Kristallwachstum in

einer makroskopischen, kristallinen Domäne resultiert. Es wäre wünschenswert mehr Details über die Zusammensetzung des CIT in Erfahrung zu bringen. Desweiteren wäre zu überprüfen, ob sich die Eigenschaften des CIT direkt durch die Wahl eines anderes Additives - beispielsweise andere Vertreter aus der Nylon(m.n)-Oligoamidgruppe - beeinflussen lassen. Diese Molekülfamilie wäre dafür sehr gut geeignet, da durch Variation in der Anzahl der (CH_2)-Gruppen das H-Brückensystem innerhalb einer Monoschicht gezielt manipuliert werden kann [150, 151]. Weiterhin könnte man durch eine Veränderung der Ladungsdichte an der Oberfläche der Monoschicht Einfluss auf den CIT nehmen. In diesem Fall wären möglicherweise carboxylatreiche Calix[n]arene oder Resorc[n]arene von Interesse.

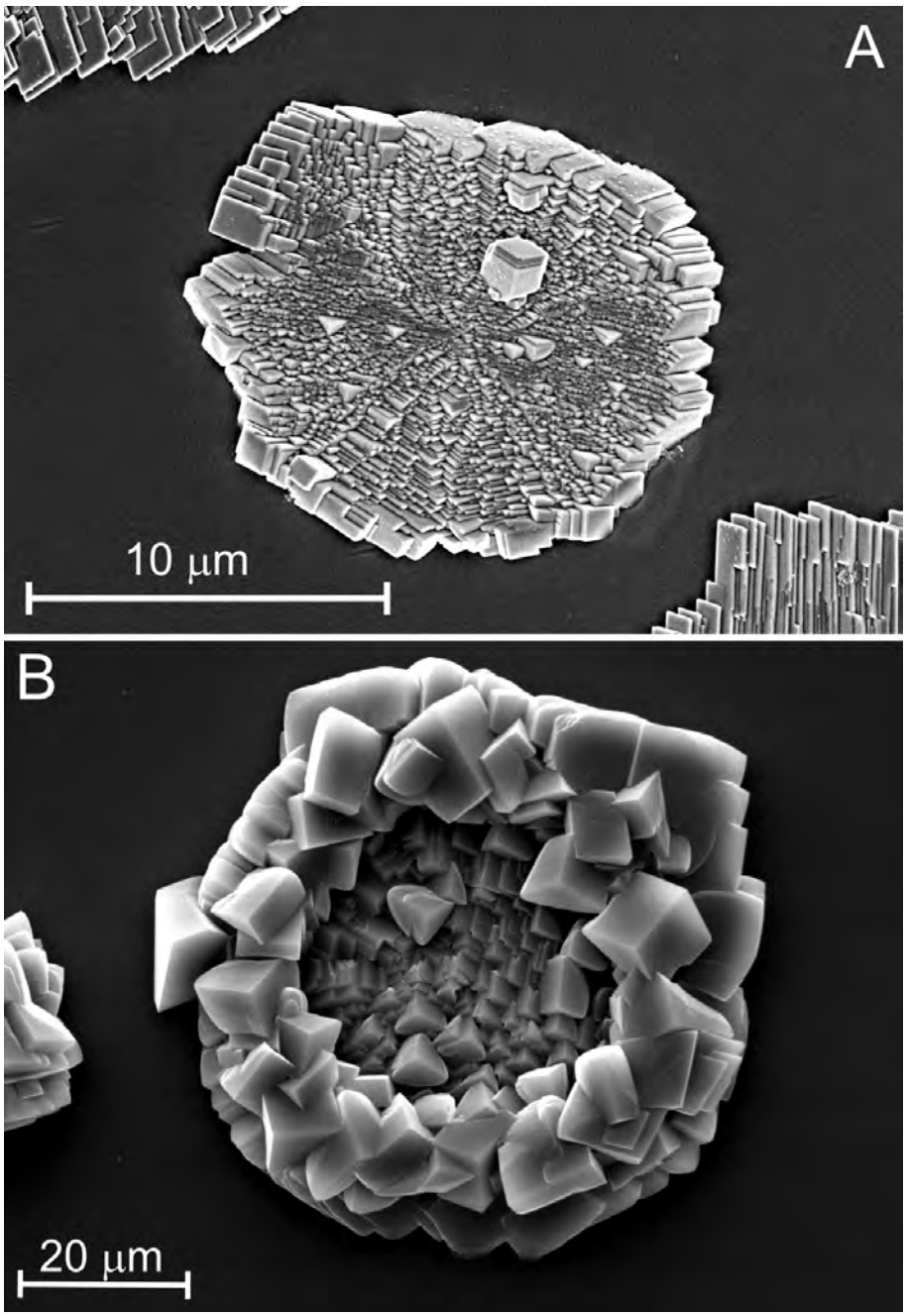

Abbildung 3.26.: SEM-Bilder einer polykristallinen Domäne (oben). Deutlich ist die einheitliche Orientierung der Calcitkristalle zu erkennen. (unten): Die am Rand der Domäne wachsenden Kristalle bilden zusammen mit der Grundplatte die abschließende Überstruktur.

4. Diskussion der Ergebnisse

4.1. Experimentelle Durchflussanordnung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein neuartiger Ansatz zur biomimetischen Kristallisation von Calciumcarbonat vorgestellt. Im Gegensatz zu anderen, biologisch inspirierten Kristallisationsmethoden (Diffusionsmethoden [68, 83], Kitanomethode [82, 79]), ermöglicht dieser sogenannte Perfusionsansatz eine Kontrolle über fast alle Reaktionsparameter, wie pH-Wert und Konzentrationsprofile. Insbesondere die Konstanz des pH-Werts und der Konzentration übt einen erheblichen Einfluss auf das Calciumcarbonatsystem aus. Die in einem typischen Diffusionsexperiment beteiligten Reaktionspartner werden im Laufe des Experiments verbraucht, indem diese vom wachsenden Kristall aufgenommen werden. So verarmt die Mutterlösung nach und nach an Ca-Ionen und auch an zugegebenen Additiven. Insbesondere die Varianz des pH-Werts, gerade zu Begin des Diffusionsexperiments, wird durch unseren Ansatz vermieden. Derartige pH-Wert-Schwankungen könnnen große Auswirkungen auf die Sekundärstruktur von organischen Makromolekülen haben, wie auf die Ausbildung von α-Helices oder β-Faltblättern. In einem Durchflussexperiment bleiben alle angesprochenen Parameter konstant. Der stetige Strom von übersättigter Calciumcarbonatlösung resultiert in einer gleichbleibenden Elektrolytkonzentration, was das Kristallisationssystem kontrollierbarer macht. Jedoch bleibt anzumerken, dass die Strömungsverhältnisse in der verwendeten Durchflusszelle

offensichtlich zu lokalen Konzentrationsschwankungen führen können. Anschaulich wird dies in der Mäandertextur von abgeschiedenen amorphen Calciumcarbonatphasen deutlich (vgl. Kapitel 3.3). Eine verbesserte Konstruktion unter stärkerer Berücksichtigung der Strömungsverhältnisse in einer solchen Zelle sollte bei zukünftigen Perfusionsapparaturen bedacht werden.

Diese beschriebenen Unterschiede führten in Experimenten zu abweichenden Ergebnissen von literaturbekannten Systemen. So kann die Kristallisation von Calciumcarbonat unter dem Einfluss von Magnesium-Ionen in einem Diffusionsexperiment bis zu Ca / Mg - Verhältnissen von 1 : 6 durchgeführt werden [68, 63, 152]. In einem Perfusionsexperiment kommt es bereits ab einem Ca / Mg - Verhältnis von 1 : 4 zu einer vollständigen Inhibierung des Kristallwachstums. Dementsprechend wird auch nicht die Bildung einer Aragonitphase beobachtet, sondern es wird einzig magnesiumhaltiger Calcit mit einem Magnesiumgehlt von bis zu 6 Mol.% erhalten (Tief-Mg-Calcit). Diese Beobachtung wurde durch XRD-Studien an Calcitproben mit verschiedenen Ca / Mg - Verhältnissen dokumentiert.

In weiteren Experimenten wurde das Kristallisationsverhalten von Calciumcarbonat unter dem Einfluss eines sauren Polyelektrolyten (PAA) untersucht. Wiederum war aus der Literatur bekannt, welche Wirkung dieses Additiv auf die Calcitmorphologie ausübt. Gower *et al.* und Xu *et al.* beschreiben dies ausführlich in ihren Arbeiten [127, 153, 154, 155]: PAA ist ein starker Kristallisationsinhibitor. Bei geringen PAA-Konzentrationen (0.1 - 0.24 mg mL^{-1}) weisen die Kristallite starke Deformationen auf. Bei höheren Konzentrationen (ab 0.60 mg mL^{-1}) vermag PAA eine amorphe Phase zu stabilisieren.

Wird dieses Experiment auf die Durchflusszelle übertragen, so werden einige Unterschiede deutlich: Gower *et al.* beobachten starke Deformationen an wachsenden Calcitkristallen und die Ausbildung von spiralförmigen

Auswüchsen (*Protrusions*). Weiterhin zeigten Polymorphanalysen, dass die erhaltenen Kristallaggregate, neben Calcit auch Vaterit enthielten. In der Perfusionsanordnung wurden weder spiralförmige Auswüchse beobachtet, noch konnte durch XRD-Messungen Vaterit nachgewiesen werden. Es zeigte sich, dass einige Kristallaggregate unter dem zunehmenden Einfluss von PAA stark deformierte Morphologien annehmen und es zu einer Ausbildung von turmartigen Strukturen kommt. Bei höheren Konzentrationen erfolgt eine vollständige Inhibierung des Kristallwachstums und eine Stabilisierung einer metastabilen amorphen Phase.
Auch andere organische Additive haben in Vergleichsstudien Verwendung gefunden. Diese sind im einzelnen Poly(Asparaginsäure) und Poly(Glutaminsäure) [156]. Im Vergleich zu PAA ist auffällig, dass diese Makromoleküle eine sehr viel stärker inhibierende Wirkung zeigen: So entspricht die PAA-Konzentration in einem typischen Durchflussexperiment, das eine vollständige Kristallisationsinhibierung zur Folge hat etwa 0.60 mg mL^{-1}. Um den gleichen Effekt mit den erwähnten Poly-Aminosäuren zu erreichen genügt bereits eine Konzentration von 15 - 25 μg mL^{-1}. Die Auswirkungen der Poly-Aminosäuren und PAA auf die Kristallisation sind jedoch ähnlich: Es bilden sich ebenfalls stark deformierte Calcitaggregate und bei höheren Konzentrationen findet eine vollständige Inhibierung des Kristallwachstums statt. Die Wechselwirkung der verwendeten Polymere mit dem wachsenden Kristall ist unspezifisch. Gründe hierfür sind fehlende Strukturmotive, da diese Polymere keine Faltblattstrukturen oder ähnliches ausbilden [149]. Daher kann es nicht gezielt zu Interaktionen mit spezifischen Kristallflächen kommen. Spezifische Wechselwirkungen können mit synthetischen Oligopeptiden erreicht werden [87, 156, 157, 158, 159].
Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Einführung dieses neuartigen experimentellen Ansatzes, neue Aspekte in die biomimetische Kristallisation einbringen konnte. Die Kontrolle über kritische Reaktionsparameter spielt

eine wichtige Rolle, was auch im weiteren Verlauf deutlich wird. Weiterhin haben diese Vorversuche gezeigt, dass saure Polymere unter diesen Voraussetzungen amorphe Kristallphasen stabilisieren. Dieses Ergebnis wurde in den Folgeexperimenten weiter überprüft.

4.2. Stabilisierung einer amorphen Calciumcarbonatphase

Saure Polyelektrolyte vermögen das Kristallwachstum vollständig zu inhibieren. Die in der Literatur beschriebenen flüssig-flüssig-Phasenseparationen [60] und die daraus resultierende Stabilisierung einer amorphen Calciumcarbonatphase wurde erfolgreich auf das Perfusionssystem übertragen. Dabei konnte festgestellt werden, dass niedermolekulare, ataktische Polyacrylsäure am besten für die Stabilisierung einer metastabilen ACC-Phase geeignet ist. Der von Gower *et al.* beschriebener PILP-Prozess [60] und das damit verbundene Auftreten von tröpfenförmigen Aggregaten konnte nicht beobachtet werden.
Der temperaturinduzierte Phasentransformation des erhaltenen ACC-Dünnfilms in einen polykristallinen Dünnfilm zeigt, wie stabil die dargestellte ACC-Phase ist. Eine Umwandlung bei RT erfolgt nur sehr langsam und nicht vollständig. Jedoch ist anzumerken, dass das gewählte Verfahren nicht biomimetisch ist, da Temperaturen von 400 ^{o}C in Organismen nicht erreicht werden. Doch ist der resultierende polykristalline Dünnfilm ein ideales Substrat, um Templateffekte zu studieren. In der Literatur wurde in der jüngsten Zeit auch über die Darstellung von polykristallinen Dünnfilmen in Gegenwart von Poly(Glutaminsäure) und Poly(Asparaginsäure) berichtet [153, 160, 161]. In allen Fällen wurde zunächst eine metastabile amorphe Phase stabilisiert, die langsam kristallisierte. Aus einigen Berichten geht hervor, dass zur Darstellung von polykristallinen Dünnfilmen zusätzlich mo-

difizierte Substratoberflächen notwendig sind [141, 162, 163]. Kato *et al.* haben einen Mechanismus zur Bildung von kristallinen Dünnfilmen vorgeschlagen, bei dem den Polyelektrolyten eine zweifache Bedeutung zukommt. Zum einen präzipitiert das Polymer auf der Substratoberfläche und akkumuliert auf diese Weise die Calciumcarbonat. Weiterhin fungiert es als Kristallisationsinhibitor und verhindert somit, dass das auf der Substratoberfläche befindliche $CaCO_3$ kristallisiert. Gower *et al.* haben einen anderen Mechanismus vorgeschlagen, der auf einer flüssig-flüssig-Phasenseparation beruht. Dieser *polymer-induced liquid precursor*-(PILP)-Prozess führt ebenfalls zu einem amorphen Dünnfilm [60]. Cho *et al.* haben die Bildung von $CaCO_3$-Dünnfilmen auf verschiedenen Substraten unter dem Einfluss von PAA untersucht [153]. Dabei haben sie die These aufgestellt, dass PAA die attraktiven Wechselwirkungen zwischen amorphen Calciumcarbonatpartikeln herabsetzt und gleichzeitig die Adhäsionskräfte zwischen amorphen Kolloidpartikeln und Substratoberfläche erhöht. Dies führt zur Ausbildung eines flachen Mineralfilms über eine metastabile amorphe Zwischenstufe.
Der erhaltene kristalline Calcitdünnfilm wurde auf das Vorhandensein einer Vorzugsorientierung hin untersucht. Röntgenbeugung (XRD) und EBSD-Messungen an Calcitdünnfilmproben zeigten, dass eine regellose Textur besitzt, bei der alle Hauptorientierungen gleich häufig vorkommen. Die durch EBSD-Messungen gefundenen Orientierungen der einkristallinen Domänen entsprechen im Wesentlichen den Ergebnissen der Polscope-Mikroskopie. Jedoch ergaben sich Probleme bei der Probenpräparation der Calcit-Dünnfilme. Nur wenige dargestellte Proben konnte durch EBSD-Analysen charakterisiert werden. Bei nicht zu charakterisierenden Proben war die Qualität der erhaltenen Kikuchi-Diagramme zu schlecht, um diese interpretieren zu können. Ein Polieren der sehr rauhen polykristallinen Probenoberfläche (RMS = 16.90 nm) könnte hier Abhilfe schaffen. Weiterhin sollte der wärmeinduzierte Phasentransfer optimiert werden. Bei einzelnen Pro-

ben wurde eine Ablösung der kristallinen Film nach dem Tempervorgang beobachtet, was eine EBSD-Analyse erschwerte bzw. teilweise unmöglich machte.
Im weiteren Verlauf des Experiments wurde ein Calcitdünnfilm als Templat für den Aufwuchs von Calcit verwendet. Das Wachstum erfolgte in der Durchflussanordnung ohne den Einfluss eines Additivs und resultiert in hochgeordneten, perlmuttartig strukturiertem Calcit. Dieses Ergebnis ist etwas überraschend, wenn man von dem klassischen Modell der Templatwechselwirkungen ausgeht [149]. Der zu Grunde liegende polykristalline Dünnfilm zeichnet sich durch eine große Oberflächenrauhigkeit aus, was eine geometrische Epitaxiebeziehung zwischen Templat und aufwachsendem Kristall ausschließt.
Als Erklärung für dieses Phänomen lassen sich elektrostatische Wechselwirkungen anführen. Exprimierte Kristallflächen unterscheiden sich in ihrer Oberflächenladung. So ist beispielsweise die {10.4}-Kristallfläche hinsichtlich ihrer Gesamtladung elektrisch neutral, da die Ionen in dieser Fläche zu gleichen Teilen vorkommen. Im Gegensatz dazu ist die {00.1}-Kristallfläche nur durch Calcium-Ionen begrenzt, was einen deutlichen Einfluss auf wechselwirkende Elektrolyte hat. So kann man annehmen, dass auf geladenen Templatoberflächen Kristallite bevorzugt mit einer spezifischen Kristallfläche aufwachsen, was in einem Zustand niediger Energie resultiert. Derartig orientierte Kristalle bilden hochgeordnete Bereiche von einheitlich orientierten Calcitkristallen. Diese Vorstellung erklärt auch den abrupten Wechsel von Kristallorientierungen an den Rändern der Einkristalle des zu Grunde liegenden Calcitdünnfilms. Rein elektrostatische Wechselwirkungen wurden auch schon in anderen Systemen als Haupttriebkraft für die orientierte Kristallisation angeführt [94, 158, 164, 165, 166].

4.3. Die Bedeutung des CIT

In diesem Experiment wurde dem Kristallisationsystem ein Oligoamid (Nylon(6.6)) zugegeben. Wie sich zeigte, bildet dieses Oligoamid auf polaren Substraten eine netzartige Monoschicht mit einer Dicke von 1.8 - 2.2 nm. In Gegenwart von Ca^{2+}- und $CO_3{}^{2-}$-Ionen kommt es nach Ausbildung dieses Dünnfilms zur Bildung eines weiteren Dünnfilms auf der Nylon(6.6)-Monoschicht.

Wie sich im weiteren Verlauf des Experiments herausstellte, findet ausschließlich auf diesem zweiten Dünnfilm orientiertes Kristallwachstum statt. Daher hat dieser Film die Bezeichnung CIT (*crystallization-inducing-thin film*) erhalten. Dieser Film wurde mit AFM-Techniken charakterisiert. Dabei wurde deutlich, dass dieser eine glatte Oberfläche besitzt und härter ist, als der zu Grunde liegende Nylon(6.6)-Film. Der CIT fungiert als Kristallisationstemplat. Vermutlich aufgrund von elektrostatischen Wechselwirkungen erfolgt hochorientiertes Aufwachsen von Calcit auf diesem Dünnfilm. Da die Oberfläche des Films sehr glatt ist und dieser Film nicht aus demselben Material wie die Nylon(6.6)-Monoschicht besteht, kann man annehmen, dass der CIT teilweise einkristallinen Charakter aufweist. Legt man diese Vorstellung zu Grunde, so handelt es sich hier um einen ähnlichen Mechanismus, wie der perlmuttartige Aufwuchs von Calcit auf einem polykristallinen Dünnfilm. Daraus würde folgen, dass die Nylon(6.6)-Monoschicht nicht direkt mit den aufwachsenden Kristallen wechselwirkt. Demzufolge wäre das klassische Biomineralisationsmodell an dieser Stelle ungenügend bzw. nicht auf dieses System anwendbar.

In Organismen läuft möglicherweise ein ähnlicher Prozess ab, der zu hochorientierten Architekturen führt: Als Grundlage könnten Faserproteine dienen, die eine darauf adsorbierte organische Matrix stützen. Die Aufgabe der organischen Matrix wäre es, einen CIT mit speziellen Eigenschaften zu stabilisieren. Wiederum würde dieser CIT direkt die Orientierung, und

möglicherweise auch das Polymorph, der aufwachsenden Kristalle beeinflussen. Um diese These zu überprüfen, bedarf es genauerer Analysemethoden. Daher ist eine chemische Charakterisierung des CIT unabdingbar.

5. Zusammenfassung und Ausblick

In den hier vorgestellten Experimenten wurde eine neuartige experimentelle Anordnung zur biologisch inspirierten Kristallisation von Calciumcarbonat vorgestellt. Diese Anordnung unterscheidet sich deutlich von bisherigen Versuchsanordnungen (Diffusionsansatz, Kitanomethode), da hier unter *non-equilibrium*-Bedingungen gearbeitet wird. Dass heisst, alle Versuchsparameter (pH-Wert, Konzentration) bleiben während des Experimentes konstant.

Um den Einfluss dieses Versuchsaufbaus zu prüfen, wurden verschiedene literaturbekannte Systeme auf diese Anordnung übertragen. Der Einfluss von Magnesium-Ionen, sowie sauren Polyelektrolyten (PAA, pAsp, pGlu) auf das Kristallisationsverhalten von Calciumcarbonat wurde überprüft und mit den Ergebnissen aus der Literatur verglichen. Dabei stellte sich heraus, das viele Erkenntnisse durchaus mit der Literatur konform sind, es jedoch auch Unterschiede gibt; beispielsweise wird die Kristallisation von magnesiumhaltigem Calcit bei geringeren Ca / Mg - Verhältnissen vollständig inhibiert. Auch war es nicht möglich, unter diesen Bedingungen eine Aragonitphase zu stabilisieren.

Der Einfluss von sauren Polymeren auf das Kristallwachstum stimmt gut mit den in der Literatur bekannten Systemen überein. PAA und andere verwendete Poly-Aminosäuren sind starke Kristallisationsinhibititoren, die

bei geringen Konzentrationen unspezifisch mit den wachsenden Kristallen wechselwirken, was zu stark deformierten Kristallaggregaten führt. Zudem haben Experimente mit PAA gezeigt, dass sich in der Durchflusszelle eine amorphe Calciumcarbonatphase stabilisieren lässt.
Experimente zur Stabilisierung dieser ACC-Phase verliefen erfolgreich und es ist gelungen eine Phasentransformation zu induzieren, die zu einem flächigen und regelmäßigem polykristallinen Dünnfilm führt. Dieser polykristalline Dünnfilm aus Calcit besteht aus vielen einkristallinen Domänen mit einer lateralen Ausdehnung von bis zu 150 μm. Die Domänen sind durch scharfe Grenzen voneinander getrennt. Der Film hat eine Dicke von 500 - 700 nm und ist stark doppelbrechend. Im Weiteren wurde dieser kristalline Dünnfilm mit Hilfe von optischer Polmikroskopie charakterisiert, dabei handelt es sich um ein neuartiges Verfahren zur digitalen Bildanalyse, was Informationen über die kristallographische Orientierung der einzelnen kristallinen Domänen des Dünnfilms liefern konnte. Texturuntersuchungen wurden mit Hilfe von Röntgenbeugungsmethoden und EBSD-Analysen durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass der polykristalline Film eine regellose Textur besitzt. Von einer Anisotropie des Vielkristalls kann in diesem Fall nicht gesprochen werden.
In Folgeexperimenten wurde dieser polykristalline Dünnfilm als Templat für den Aufwuchs von Calcit verwendet. Durch dieses Verfahren ist es erstmalig gelungen, perlmuttartig strukturiertes Calciumcarbonat herzustellen. Die erhaltene, architektonisch perfekte Anordnung von Calcitkristallen ist mit den stapelförmig angeordneten Aragonitplättchen in der Perlmuttschicht einer Muschelschale strukturell durchaus vergleichbar. Überraschend an dieser Morphosynthese ist vor allem, dass keine organische Matrix für diese Art von Wachstum benötigt wird, sondern die einkristallinen Domänen des polykristallinen Dünnfilms dafür ausreichend sind. Dieses Ergebnis widerspricht in Teilen dem klassischen Biomineralisationsmodell, das von einer

direkten Wechselwirkung zwischen organischer Matrix und Kristall ausgeht. In diesem konkreten Fall kann nicht von einer geometrischen Epitaxie gesprochen werden, da die Oberfläche des polykristallinen Films eine hohe Oberflächenrauhigkeit aufweist. Daher können hierfür allein elektrostatische Wechselwirkungen verantwortlich gemacht werden.
Durch ein weiteres Modellsystem konnte ebenfalls gezeigt werden, dass das klassische Modell nicht ausreichend ist: Es wurden organische Dünnfilme aus Oligoamiden (Nylon(6.6)) abgeschieden, auf denen sich nach kurzer Zeit und in Gegenwart von Ca- und CO_3-Ionen, ein *crystallization-inducing-thin film* (CIT) abscheidet. Auf diesem CIT findet hochorientiertes Calcitwachstum statt. Diese Zwischenstufe wurde bisher noch nicht beobachtet. Dieses Experiment liefert den ersten Hinweis auf einen Vermittler zwischen organischer Matrix und wachsendem Kristall. Zugleich zeigt es eindeutig, dass die weiche, organische Matrix nicht direkt mit dem harten Ionenkristall in Kontakt steht und somit direkte Wechelwirkungen ausgeschlossen werden können. Über die chemische Zusammensetzung des CIT, der eine Dicke von 5 - 12 nm aufweist, ist bisher nichts bekannt.
Ziel von zukünftigen Experimenten sollte es daher sein, mehr über diesen strukturvermittelnden Film in Erfahrung zu bringen. Wenn die vermittelten Wechselwirkungen ausschließlich elektrostatischer Natur sind, sollte es möglich sein, diese Eigenschaften durch eine gezielte Modellierung der organischen Matrix zu beeinflussen. Möglicherweise führt eine Veränderung in der Ladungsdichte der organischen Matrix zu einer anderen Zusammensetzung des CIT und damit zu einem veränderten Kristallisationsverhalten. In diesem Zusammenhang bieten sich funktionalisierte Calix[n]aren oder Resorc[n]aren-Derivate an. Durch organische Synthese kann beispielsweise leicht die Anzahl der Carbonsäurefunktionen pro Molekül verändert werden, so dass immobilisierte Dünnfilme dieser Molekülfamilie ausgezeichnete Kandidaten zur Überprüfung dieser These darstellen würden.

Das Potential der Durchflussanordnung ist noch nicht ausgeschöpft. So haben erste Versuche mit oberflächenmodifizierten Substraten gezeigt, dass eine Stabilisierung von ACC ohne den Einfluss eines Additivs möglich ist. Zudem sind die verwendeten Polymere gleichzeitig Polysäuren und es ist möglich diese Dünnfilme mit Magnesium-Ionen zu beladen [167]. Gelänge es in Folgeexperimenten, auf diesen beladenen Substraten eine ACC-Schicht zu stabilisieren, erfolgt möglicherweise eine Phasentransformation in das kristalline Polymorph Aragonit. Ein solcher Aragonitdünnfilm könnte analog dem morphosynthetischen Ansatz zur Darstellung von perlmuttartig strukturiertem Calcit verwendet werden. Unter Beachtung der gewonnenen Erkenntnisse sollte es dann möglich sein, ein echtes artifizielles System zu Erzeugung von Perlmutt zu entwickeln.
In ersten Versuchen konnte weiterhin gezeigt werden, dass es mit Hilfe von strukturierten Substratoberflächen möglich ist, regelmäßige Calcit-Gitter darzustellen (vgl. Abb. 5.1). Derartige Strukturen könnten in der Chipindustrie als Isolationsmaterial oder zur Funktionalisierung von Oberflächen eingesetzt werden. Auch kann dieses Perfusionssystem auf andere Kristallsyste-

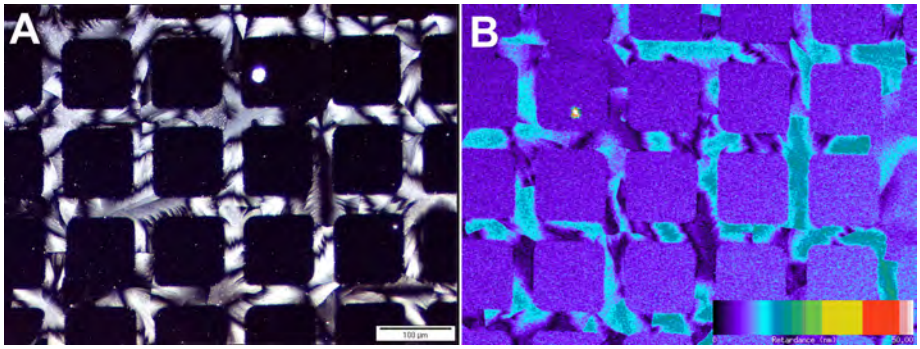

Abbildung 5.1.: Die Abbildung zeigt optische Aufnahmen von strukturierten Calcit-Gittern. In Bild (A) ist eine Gitterstruktur unter gekreuzten Polarisatoren abgebildet, woduch die kristallinen Bereiche (Calcit) deutlich zu erkennen sind. Bild (B) zeigt eine andere Region der Probe: Abgebildet sind in diesem Fall die *retardance*-Werte.

me angewendet werden. Beispielsweise ist es mit Hilfe dieser Versuchsanordnung bereits gelungen, amorphe Schichten aus Calciumphosphat (Apatit) abzuscheiden. Die Erfahrungen aus den Untersuchungen am Calciumcarbonatsystem lassen sich möglicherweise dazu verwenden, orientiertes Apatitwachstum zu induzieren oder metastabile Apatitphasen zu stabilisieren. Diese neuartigen Materialen hätten ein breites Anwendungsfeld, insbesondere als *echte* Knochen- oder Zahnersatzmaterialien.

A. Spezifikation der verwendeten technischen Geräte

Raster-Elektronenmikroskopische Aufnahmen SEM-Aufnahmen wurden an einem Hitachi S-5200 *in-lense field-emission* SEM und an einem XL30 ESEM (Phillips) bei einer Beschleunigungsspannung von 1.5 - 4 kV durchgeführt. Die Proben wurden zuvor mit Platin/Palladium bedampft.

AFM-Messungen Oberflächenrauhigkeitsstudien und Topographiebilder wurden an einem Nanoscope II durchgeführt.

IR-Spektroskopie wurde an einem Shimadzu FTIR-8300 durchgeführt.

XRD-Messungen wurden an einem Philips PW3710 Diffraktometer unter Verwendung von Cu-Kα-Strahlung durchgeführt, Texturanalyse an einem X'Pert PRO MRD mit großer Eulerwiege, Röntgenlinse und sekundärseitigem Dünnschichtkollimator. Scans wurden teils gekoppelt und mit streifendem Einfall gemessen und von der Firma Panalytical durchgeführt. Als Auswertungssoftware wurde X'Pert Datacollector, Data Viewer, HighScore Plus und X'Pert Texture verwendet.

Raman-Spektroskopie Es wurde ein konfokales Raman Mikroskop der Firma WITec (www.witec.de) verwendet, um einzelne Ramanspektren und Ramanbilder von Calcitaggregaten aufzunehmen. Ein Nikon 100x (NA =

0.90) Objektiv und ein NdYag-Laser ($\lambda = 532nm$) wurde für alle Messungen verwendet.

Optische Mikroskopie und LC-Polscope-Mikroskopie wurde an einem Olympus IX70 - Mikroskop durchgeführt. Zur digitalen Bildanalyse wurde die Software Analysis 3.0 verwendet. Für die LC-Polscope-Messungen wurde ein Flüssigkristall-Kompensator, ein 546 nm Interferenzfilter, eine hochauflösende CCD-Kamera und die Software *Abrio/LC-PolScope* verwendet.

Technische Daten zur Durchflusszelle Die verwendeten Mikroinjektionspumpen wurden von der Firma KNF-Flodos bezogen und tragen die technische Bezeichnung StepDos 03RC.

Technische Daten zur EBSD EBSD-Messungen wurden an einem Zeiss LEO1540-SEM durchgeführt. Die Proben wurden zuvor mit einer Kohlenstoffschicht bedampft.

B. Zusatzinfomationen zur Darstellung von Calcit-Überstrukturen

Ramanspektroskopie Ramanspektroskopie an Calcitüberstrukturen geben Aufschluss über das entstandene Polymorph; dabei wurde ausschließlich Calcit gefunden. Die gezeigten Raman-Bilder entstehen durch Abrastern der diskreten Struktur bei den Ramanlinien um 1075 cm^{-1} und um 283 cm^{-1}. Die erhaltenen Bilder sind in Abb. B.1 dargestellt.

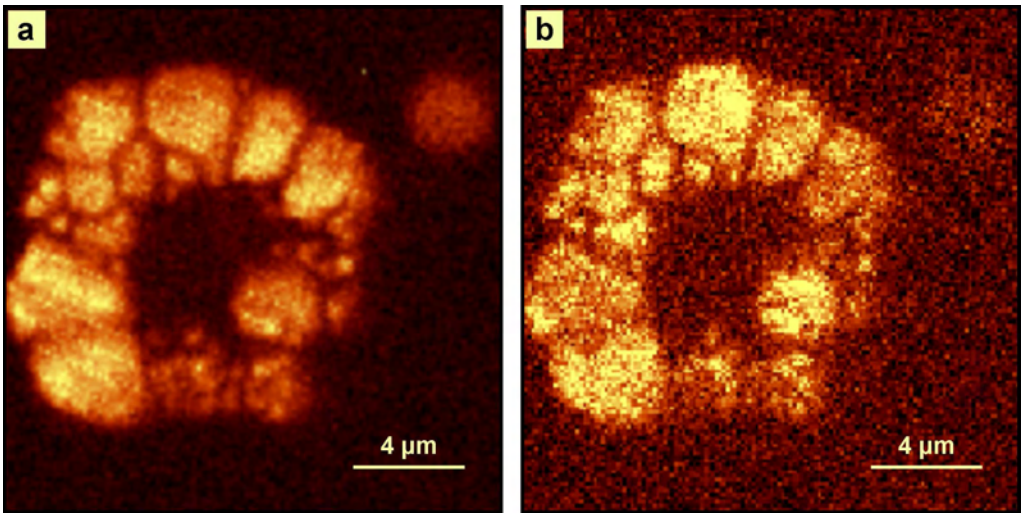

Abbildung B.1.: Ramanbilder einer Calcit-Ultrastruktur: (a) 1050 - 1100 cm^{-1} und (b) 275 - 290 cm^{-1}.

Amorphes Calciumcarbonat Einige Bereiche der Probe wurden von typischen ACC-Partikeln bedeckt (vgl. Abb. B.2). Möglicherweise werden diese Partikel in Lösung gebildet und sinken anschließend auf die Substratoberfläche ab. Auf die Bildung des CITs haben diese Strukturen keinen offensichtlichen Einfluss.

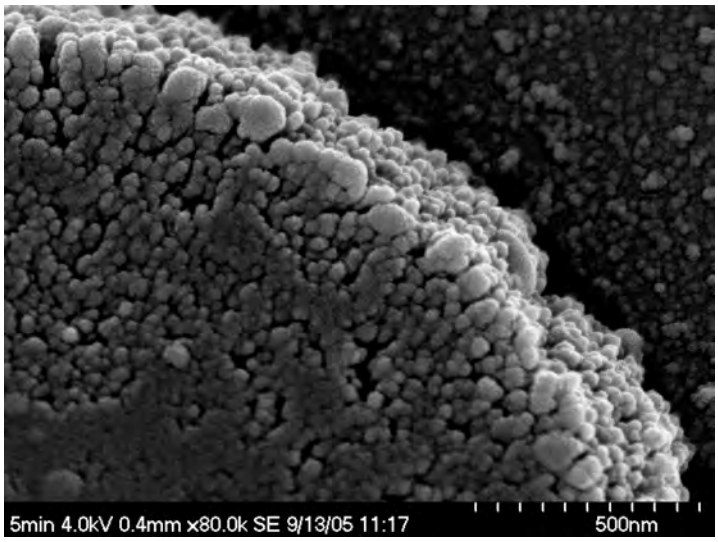

Abbildung B.2.: SEM-Aufnahme von ACC-Strukturen, die sich auf einigen Bereichen der Proben befinden.

C. Liste der verwendeten Abkürzungen

CC	Calciumcarbonat, $CaCO_3$
PAA	Poly(acrylsäure), ataktisches Polymer
pAsp	Poly(asparaginsäure)
PGlu	Poly(glutaminsäure)
Mg	Magnesium-Ion, Mg^{2+}
ACC	amorphes Calciumcarbonat
SEM	*scanning electron microscopy*
AFM	*Atomic force microscopy*
XRD	*X-Ray diffraction*
N66	Nylon(6.6)
EBSD	*electron backscatter diffraction*
IR	Infrarotspektroskopie
PILP	*polymer-induced liquid precursor*
RMS	*root-mean-square surface roughness*

D. Liste der verwendeten Chemikalien

$CaCl_2$ Dihydrat	Merck, p.A., CAS-Nr. 10035-04-8
Na_2CO_3	Merck, p.A., CAS-Nr. 497-19-8
Poly(Acrylsäure)-Na-Salz	Fluka, p.A., M_W 2100, CAS-Nr. 9003-04-7
$MgCl_2$ Hexahydrat	Baker, p.A., CAS-Nr. 7791-18-6
H_2SO_4	Merck, p.A., 98%, CAS-Nr. 7664-93-9
H_2O_2	Merck, med. reinst, 30%
H_2O	gereinigtes Wasser, Millipore, L≥18.2 MΩcm

Literaturverzeichnis

[1] Vincent, J.F.V.: *Structural Biomaterials.* Macmillian Press, London, 1982

[2] Hiltner, A. ; Cassidy, J.J. ; E., Baer: In: *Ann. Rev. Mater. Sci.* 15 (1985), S. 455

[3] Lowenstam, H.A. ; Weiner, S.: *On Biomineralization.* Oxford University Press, New York, 1989

[4] Bengston, S. ; Morris, S.C. ; Schopf, J.W. (Hrsg.) ; Klein, C. (Hrsg.): *Early Evolution of the Metazoa.* Plenium, New York, 1992

[5] Bengston, S. ; Conway-Morris, S. ; Cooper, B.J. ; Jel, P.A. ; Runnegar, B.N.: In: *Mem. Assoc. Australian Paleont.* (1990), S. 9

[6] Weiner, S. ; Addadi, L.: In: *J. Mater. Chem.* 7 (1997), S. 689

[7] Wolber, P. ; Warren, G.: In: *Trends Biochem. Sci.* 14 (1991), S. 179

[8] Tsuda, S. ; Ita, A. ; Matsushima, N.: In: *FEBS Lett.* 409 (1997), S. 227

[9] Schmid, D. ; Pridmore, D. ; Capitani, G. ; Battistutta, R. ; Neeser, J.R. ; Jann, A.: In: *FEBS Lett.* 414 (1997), S. 590

[10] Kajava, A.V. ; Lindow, S.E.: In: *J. Mol. Biol.* 232 (1993), S. 709

[11] Lichtenegger, H.C. ; Schberl, T. ; Bartl, M.H. ; Waite, H. ; Stucky, G.D: In: *Science* 298 (2002), S. 389

[12] Simkiss, K. ; Wilbur, K.M.: *Biomineralization, Cell Biology and Mineral Deposition.* Academic Press, San Diego, 1989

[13] Coelfen, H. ; Mann, S.: In: *Angew. Chem.* 115 (2003), S. 2452

[14] Koehl, M.A.: In: *J. Exp. Biol.* 98 (1982), S. 239

[15] Weiner, S. ; Traub, W. ; Lowenstam, H.A. ; Westbroek, P. (Hrsg.) ; de Jong, E.W. (Hrsg.): *Biomineralization and Biological Meal Accumulation.* Reidel, Dordrecht, 1983

[16] Addadi, L. ; Weiner, S.: In: *Angew. Chem. Int. Ed.* 31 (1992), S. 153

[17] Addadi, L. ; Weiner, S.: In: *Angew. Chem.* 104 (1992), S. 159

[18] Aizenberg, J. ; Lambert, G. ; Addadi, L. ; Weiner, S.: In: *Adv. Mater.* 8 (1996), S. 222

[19] Albeck, S. ; Addadi, L.: In: *Chem. Eur. J.* 2 (1996), S. 278

[20] Lipmann, F.: *Sedimentary Carbonate Minerals.* Springer Verlag, Berlin, 1973

[21] Carlstrom, D.: In: *Biol. Bull.* 125 (1963), S. 441

[22] Lowenstam, H.A. ; Abbot, D.P.: In: *Science* 188 (1975), S. 363

[23] Hall, A. ; Taylor, J.D.: In: *Mineral Mag.* 38 (1971), S. 521

[24] Clarkson, J.R. ; Price, T.J. ; Adams, C.J.: In: *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 88 (1992), S. 2423

[25] Addadi, L. ; Raz, S. ; Weiner, S.: In: *Adv. Mater.* 15 (2003), S. 959

[26] Weiner, S. ; Levi-Kalisman, Y. ; Raz, S. ; Addadi, L.: In: *Connect. Tissue Res.* 44 (2003), S. 214

[27] Levi, C. ; Barton, J.L. ; Guillemet, C. ; le Bras, E. ; Lehuede, P.: In: *J. Mater. Sci. Lett.* 8 (1989), S. 337

[28] Lowenstam, H.A.: In: *Chem. Geol.* 9 (1971), S. 153

[29] Minchin, E.A.: In: *Ergebn. Fortschr. Zool.* 2 (1909), S. 171

[30] Prenent, M.: In: *Biol. Rev.* 2 (1927), S. 365

[31] Raz, S. ; Testeniere, O. ; Hecker, A. ; Weiner, S. ; Luquet, G.: In: *Bio. Bull.* 203 (2002), S. 269

[32] Ziegler, A.: In: *J. Struct. Biol.* 112 (1994), S. 110

[33] Beniash, E. ; Aizenberg, J. ; Addadi, L. ; Weiner, S.: In: *Proc. R. Soc. London Ser. B* 264 (1997), S. 461

[34] Weiss, I.M. ; Tuross, N. ; Addadi, L. ; Weiner, S.: In: *J. Exp. Zool.* 293 (2002), S. 478

[35] Levi-Kalismann, Y. ; Raz, S. ; Addadi, L. ; Weiner, S. ; Sagi, I.: In: *Adv. Funct. Mater.* 12 (2002), S. 43

[36] Farmer, V.C.: *The Infrared Spektra of Minerals.* Mineralogical Society, London, 1974

[37] Koningsberger, D.C. ; Prins, R.: *X-ray Absorption: Principles, Applications and Techniques of EXFAS, SEXAFS, and XANES.* Wiley & Sons, New York, 1988

[38] Taylor, M. ; Simkiss, K. ; Greaves, G. ; Okazaki, M. ; Mann, S.: In: *Proc. R. Soc. London Ser. B* 252 (1993), S. 75

[39] Levi-Kalisman, Y. ; Raz, S. ; Weiner, S. ; Addadi, L. ; Sagi, I.: In: *Dalton Trans.* 21 (2001), S. 3977

[40] Runnstrom, J.: In: *Wilhelm Roux' Arch. Entwicklungsmech. Org.* 124 (1931), S. 273

[41] Berman, A. ; Hanson, J. ; Leiserowitz, L. ; Koetzle, T.F. ; Weiner, S. ; Addadi, L.: In: *Science* 259 (1993), S. 776

[42] Raz, S. ; Hamilton, P. ; Wilt, F. ; Weiner, S. ; Addadi, L.: In: *Adv. Funct. Mater.* 13 (2003), S. 480

[43] Theel, H.: In: *Nova Acta Reg. Soc. Sci. Ups.* 15 (1892), S. 1

[44] Meldrum, F.C.: In: *Int. Mater. Rev.* 48 (2003), S. 187

[45] Hartman, P. ; Perdock, W.G.: In: *Acta Crystallogr.* 8 (1955), S. 49

[46] Lawn, B.: Cambridge University Press, Cambridge, 1993

[47] Han, Y.H. ; Li, H. ; Wong, T.Y. ; Brad, R.C.: In: *J. Am. Ceram. Soc.* 74 (1991), S. 3129

[48] Weedon, M.J. ; Taylor, P.D.: In: *Biol. Bull.* 188 (1995), S. 281

[49] Carson, W.D. ; Reeder, R.J. (Hrsg.): *Carbonates: Mineralogy and Chemistry.* Mineralogical Society of America, Washington DC, 1983

[50] Sawada, K. ; Othaki, H. (Hrsg.): *Crystallization processes.* Wiley and Sons, New York, 1999

[51] Weiner, S. ; Hood, L.: In: *Science* 190 (1975), S. 987

[52] Wheeler, A.P. ; Low, K.C. ; Sikes, C.S ; Sikes, C.S. (Hrsg.) ; Wheeler, A.P. (Hrsg.): *in: Surface reactive petides and polymers.* Washington, DC, ACS, 1991

[53] Hunter, G.K.: In: *Curr. Op. Solid State and Int. Sci.* 1 (1996), S. 430

[54] Campbell, A.A.: In: *Curr. Op. Coll. Int. Sci.* 4 (1999), S. 40

[55] Wheeler, A.P. ; George, J.W. ; Evans, C.A.: In: *Science* 212 (1981), S. 1397

[56] Wheeler, A.P. ; Sikes, C.S.: In: *Am. Zool.* 24 (1984), S. 933

[57] Sugawara, A. ; Kato, T.: In: *Chem. Comm.* (2000), S. 487

[58] Nousiainen, M. ; Rafn, K. ; Skou, L. ; Roepstorff, P. ; Andersen, S.O.: In: *Comp. Biochem. Physiol.* 119 (1998), S. 189

[59] Tsutsui, N. ; Ishii, K. ; Takagi, Y. ; Wantanabe, T. ; Nagasawa, H.: In: *Zool. Sci.* 16 (1999), S. 619

[60] Gower, L. ; Odom, D.J.: In: *J. Cryst. Growth* 210 (2000), S. 719

[61] Mucci, A. ; Morse, J. W.: In: *Geochim. Cosmochim. Acta* 47 (1983), S. 217

[62] Reddy, M.M. ; Wang, K.K.: In: *J. Cryst. Growth* 50 (1980), S. 470

[63] Raz, S. ; Weiner, S. ; Addadi, L.: In: *Adv. Mater.* 12 (2000), S. 38

[64] Berner, R.A.: In: *Geochim. Cosmochim. Acta* 39 (1975), S. 489

[65] Falini, G. ; Fermani, S. ; Gazzano, M.: In: *Chem. Eur. J.* 50 (1980), S. 470

[66] Meldrum, F.C. ; Hyde, S.: In: *J. Cryst. Growth* 231 (2001), S. 544

[67] Titiloye, J.O. ; Parker, S.C. ; Mann, S.: In: *J. Cryst. Growth* 131 (1993), S. 533

[68] Albeck, S. ; Aizenberg, J. ; Addadi, L. ; Weiner, S.: In: *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993), S. 11691

[69] Prieto, M. ; Putnis, A. ; Fernandez-Diaz, L. ; Lopez-Andres, S.: In: *J. Cryst. Growth* 142 (1994), S. 225

[70] Addadi, L. ; Weiner, S.: In: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82 (1985), S. 4110

[71] Addadi, L. ; Weiner, S.: In: *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 134 (1986), S. 305

[72] Song, F.: In: *Biominerals* 24 (2003), S. 3623

[73] Su, X. ; Belcher, A.M. ; Zaremba, C.M.: In: *Chem. Mat.* 14 (2002), S. 3106

[74] Weiner, S. ; Traub, W.: In: *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 304 (1984), S. 425

[75] Weiner, S. ; Traub, W.: In: *FEBS Lett.* 111 (1980), S. 311

[76] Worms, D. ; Weiner, S.: In: *J. Exp. Zool.* 237 (1986), S. 11

[77] Manne, S. ; Zaremba, C. M. ; Giles, R. ; Huggins, L. ; Walters, D. A. ; Belcher, A. ; Morse, D. E. ; Stucky, G. D. ; Didymus, J. M. ; Mann, S. ; Hansma, P. K.: In: *Proc. R. Soc. Lond. B* 256 (1994), S. 17

[78] Weiner, S. ; Addadi, L. ; Wagner, H. D.: In: *Mater. Sci. Eng. C* 11 (2000), S. 1

[79] Mann, S.: In: *Nature* 365 (1993), S. 499

[80] Aizenberg, J. ; Black, A.J. ; Whitesides, G.M.: In: *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999), S. 4500

[81] Han, Y.J. ; Aizenberg, J.: In: *J. Amer. Chem. Soc* 125 (2003), S. 4032

[82] Kitano, Y.: In: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 35 (1962), S. 1972

[83] Berman, A. ; Addadi, L. ; Weiner, S.: In: *Nature* 331 (1988), S. 546

[84] Aizenberg, J. ; Black, A.J. ; Whitesides, G.M.: In: *Nature* 398 (1999), S. 495

[85] Travaille, A.M. ; Donners, J.J. ; Gerritsen, J.W. ; Sommerdijk, N.A. ; Nolte, R.J. ; van Kempen, H.: In: *Adv. Mater.* 14 (2002), S. 492

[86] Belcher, A.M. ; Wu, X.H. ; Christensen, R.J. ; Hansma, P.K. ; Stucky, G.D. ; Morse, D.E.: In: *Nature* 381 (1996), S. 56

[87] Levi, Y. ; Albeck, S. ; Brack, A. ; Weiner, S. ; Addadi, L.: In: *Chem. Eur. J.* 4 (1998), S. 389

[88] Aizenberg, J. ; Black, A.J. ; Whitesides, G.M.: In: *Nature* 398 (1999), S. 495

[89] Mann, S. ; Archibald, D.D. ; Didymus, J.M. ; Douglas, T. ; Heywood, B.R. ; Meldrum, F.C. ; Reeves, N.J.: In: *Science* 261 (1993), S. 1286

[90] Mann, S. ; Heywood, B.R. ; Rajam, S. ; Birchall, J.D.: In: *Nature* 334 (1988), S. 692

[91] Volkmer, D. ; Fricke, M. ; Vollhart, D. ; S., Siegel: In: *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (2002), S. 4547

[92] Volkmer, D. ; Fricke, M.: In: *Z. Anorg. Allg. Chem.* 629 (2003), S. 2381

[93] Volkmer, D. ; Fricke, M. ; Agena, C. ; Mattay, J.: In: *Cryst. Eng. Comm.* 4 (2002), S. 288

[94] Volkmer, D. ; Fricke, M. ; Agena, C. ; Mattay, J.: In: *J. Mater. Chem.* 14 (2004), S. 2249

[95] Litvin, A.L. ; Valiyaveetti, S. ; Kaplan, D.L. ; Mann, S.: In: *Adv. Mater.* 9 (1997), S. 124

[96] Harms, M.: In: *Diplomarbeit* (2001)

[97] Binning, G. ; Quate, C. F. ; Gerber, C.: In: *Phys. Rev. Lett.* 56 (1986), S. 930

[98] Magonov, S.N. ; Elings, V. ; Wangboo, M.H.: In: *Surf. Sci. Lett.* 375 (1997), S. 385

[99] Hertz, H. ; Reine, J.: In: *Angew. Math.* 92 (1882), S. 156

[100] Kendall, K. ; Tabor, D.: In: *Proc. R. Soc. Lond.* A323 (1971), S. 321

[101] Oldenbourg, R. ; Torok, P.: In: *Appl. Optics* 39 (2000), S. 6325

[102] Andersen, F.A. ; Brecevic, L.: In: *Acta Chem. Scand.* (1991), S. 1018

[103] Wassermann, G. ; Grewen, J.: *Texturen metallischer Werkstoffe.* Springer Verlag, 1962

[104] Sander, B.: *Einfuehrung in die Gefuegekunde der geologischen Koerper, Zweiter Teil.* Springer-Verlag Wien, 1950

[105] Hupka, E. ; Keene, H.B.: In: *Phys. Z.* 14 (1913), S. 903

[106] Knipping, P.: In: *Phys. Z.* 14 (1913), S. 996

[107] Weber, F. ; Schmidt, W.: In: *Z. f. techn. Phys.* 8 (1927), S. 398

[108] Finch, G.I. ; Wilman, H.: In: *Ergebnisse exakter Naturwissenschaften* 16 (1937), S. 353

[109] Wiglin, A.S.: In: *Soviet Phys. Solid State.* 1 (1960), S. 229

[110] Bunge, H.J.: In: *Z. Metallkunde* 56 (1965), S. 872

[111] Roe, R.J.: In: *J. Appl. Phys.* 36 (1965), S. 2024

[112] Bunge, H.J.: *Texture Analysis in Materials Science.* Butterworth London, 1982

[113] Wenk, H.R.: *Preferred Orientations in Deformed Metals and Rocks: An Introduction to Modern Texture Analysis.* Academic Press, 1985

[114] Helming, K.: *Texturapproximation durch Modellkomponenten.* Cuvillier Verlag Gttingen, 1996

[115] Prior, D.J. ; Boyle, A.P. ; Brenker, F. ; Cheadle, M.C. ; Day, A. ; Lopez, G. ; Peruzzo, L. ; Potts, G.J. ; Reddy, S. ; Spiess, R. ; Timms, N.E. ; Trimby, P. ; Wheeler, J. ; Zetterstrm, L.: In: *Amer. Mineral.* 84 (1999), S. 1741

[116] Kikuchi, S.: In: *Jap. J. Phys.* 5 (1928), S. 83

[117] Randle, V.: *Microtexture determination and its applications.* The Institute of Materials, London, 1992

[118] Reimer, L. ; Heilers, U. ; Saliger, G.: In: *Scanning* 8 (1996), S. 101

[119] Goldstein, J.I. ; Newbury, D.E. ; Echlin, P. ; Joy, D.C. ; Romig, A.D. J. ; Lyman, C.E. ; Fiori, C. ; Lifshin, E.: *Scanning electron microscopy and X-Ray microanalysis (second edition).* Plenum Press, New York, 1992

[120] Loretto, M.H. ; Chapman (Hrsg.) ; Hall, London (Hrsg.): *Electron beam analysis of materials (second edition).* 1994

[121] Day, A.: *Developments in the EBSD technique and their application to grain imaging*, University of Bristol, Diss., 1993

[122] Wright, S.I. ; Adams, B.L.A.: In: *Metall. Trans.* 23A (1992), S. 759

[123] Wright, S.I. ; Adams, B.L.A. ; Kunze, K.: In: *Mater.Sci. Eng.* A160 (1993), S. 229

[124] Faul, U.H. ; Jackson, I. ; Fitz Gerald, J.D.: In: *J. Geophys. Res.* 109 (2004), S. 20

[125] Goldsmith, J.R. ; Graf, D.L.: In: *Amer. Mineral.* 43 (1958), S. 84

[126] Tucker, M.: *Techniques in Sedimentology.* Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, 1988

[127] Gower, L. ; Tirrell, D.A.: In: *J. Cryst. Growth.* 191 (1998), S. 153

[128] Xu, X. ; Han, J.T. ; Cho, K.: In: *Chem. Mater.* 16 (2004), S. 1740

[129] Volkmer, D. ; Harms, M. ; Gower, L. ; Ziegler, A.: In: *Angew. Chem.* 117 (2005), S. 645

[130] Volkmer, D. ; Harms, M. ; Gower, L. ; Ziegler, A.: In: *Angew. Chem. Int. Ed.* 44 (2005), S. 639

[131] Okazaki, K. ; Dillmann, R.M. ; Wilbur, K.M.: In: *Biol. Bull.* 161 (1981), S. 402

[132] Aizenberg, J. ; Albeck, S. ; Weiner, S. ; Addadi, L.: In: *J. Cryst. Growth* 142 (1994), S. 156

[133] Archibald, D.D. ; Qadri, S.B. ; Gaber, B.P.: In: *Langmuir* 12 (1996), S. 538

[134] Oldenbourg, R. ; Mei, G.: In: *J. Microsc.* 180 (1995), S. 140

[135] Oldenbourg, R.: In: *Nature* 381 (1996), S. 811

[136] Born, M. ; Wolf, E. ; Auflage, 6. (Hrsg.): *Principles of Optics.* Pergamon, Oxford, 1986

[137] Gosh, G.: In: *Chem. Comm.* (1999), S. 95

[138] Kynoch, A.: *Int.Tables for X-Ray Cryst.Bd II.* UICr, Birmingham, 1972

[139] Sellinger, A. ; Weiss, P.M. ; Nguyen, A. ; Lu, Y.F. ; Assink, R.A. ; Gong, W.L. ; Brinker, J.C.: In: *Nature* 394 (1998), S. 256

[140] Tang, Z. ; Kotov, N.A. ; Magonov, S. ; Ozturk, B.: In: *Nature Mater.* 2 (2003), S. 413

[141] Xu, G. ; Yao, N. ; Aksay, I.A. ; Groves, J.T.: In: *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998), S. 11977

[142] DiMasi, E.I. ; Pate, V.M. ; Sivakumar, M. ; Olszeta, M.J. ; Yang, Y.P ; Gower, L.B.: In: *Langmuir* 18 (2002), S. 8902

[143] Hosoda, N. ; Kato, T.: In: *Chem. Mater.* 13 (2001), S. 688

[144] Mann, S. ; Ozin, G.A.: In: *Nature* 382 (1996), S. 313

[145] Aizenberg, J. ; Muller, D.A. ; Grazul, J.L. ; Hamann, D.R.: In: *Science* 299 (2003), S. 1205

[146] Zakhidov, A.A. ; Baughman, R.H. ; Iqba, Z.l. ; Cui, C.X. ; Khayrullin, I. ; Dantas, S.O. ; Mart, I.I. ; Ralchenko, V.G.: In: *Science* 299 (1998), S. 897

[147] Parker, A.R. ; McPhedran, R.C. ; McKenzie, D.R. ; Botton, L.C. ; Nicorovici, N.A.P.: In: *Nature* 409 (2001), S. 36

[148] Giles, R. ; Manne, S. ; Mann, S. ; Morse, D.E. ; Stucky, G.D. ; Hansma, P.K.: In: *Biol. Bull* 188 (1995), S. 8

[149] Mann, S.: In: *Nature* 332 (1988), S. 119

[150] Holmes, D.R. ; Bunn, C.W. ; Smith, D.J.: In: *Polym. Sci.* 17 (1955), S. 159

[151] Kinoshita, Y.: In: *Macrom. Chem.* 33 (1959), S. 21

[152] Davis, K.J. ; Dove, P.M. ; De Yoreo, J.J.: In: *Science* 290 (2000), S. 1134

[153] Xu, X. ; Han, J.T. ; Cho, K.: In: *Langmuir* 21 (2005), S. 4801

[154] Sugawara, A. ; Ishii, T. ; Kato, T.: In: *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 (2003), S. 5299

[155] Sugawara, A. ; Ishii, T. ; Kato, T.: In: *Angew. Chem.* 115 (2003), S. 5457

[156] Mann, S.: *Biomineralization. Priciples and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry.* Oxford University Press, New York, 2001

[157] Bertrand, M. ; Brack, A.: In: *Chem. Eur. J.* 6 (2000), S. 3452

[158] Volkmer, D. ; Fricke, M. ; Huber, T. ; Sewald, N.: In: *Chem. Comm.* (2004), S. 1872

[159] Bekele, H. ; Fendler, J.H. ; Kelly, J.W.: In: *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999), S. 7266

[160] Han, J.T. ; Xu, D. ; Kim, D.H. ; Cho, K.: In: *Adv. Funct. Mater.* 15 (2005), S. 475

[161] Kato, T.: In: *Adv. Mater.* 12 (2000), S. 1543

[162] Kato, T. ; Sugawara, A. ; Hosoda, N.: In: *Adv. Mater.* 14 (2002), S. 869

[163] Hosoda, N. ; Sugawara, A. ; Kato, T.: In: *Macromolecules* 36 (2003), S. 6449

[164] Duffy, D.M. ; Harding, J.H.: In: *Langmuir* 20 (2004), S. 7630

[165] Duffy, D.M. ; Harding, J.H.: In: *Langmuir* 20 (2004), S. 7637

[166] Duffy, D.M. ; Travaille, A.M. ; van Kempen, H. ; Harding, J.H.: In: *J.Phys. Chem. B.* 109 (2005), S. 5713

[167] Zhang, H. ; Rhe, J.: In: *Macromolecules* 38 (2005), S. 4855