

# Biomimetische Materialabscheidung in funktionalisierten Hydrogelmatrices

Dissertation zur Erlangung des  
naturwissenschaftlichen Doktorgrades  
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von  
Olaf Graßmann  
aus Leverkusen

Würzburg 2003

Eingereicht am:

Bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter:

2. Gutachter:

der Dissertation

1. Prüfer:

2. Prüfer:

3. Prüfer:

des öffentlichen Promotionskolloquiums

Tag des öffentlichen Promotionskolloquiums:

Doktorurkunde ausgehändigt am:

---

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>Grundlagen</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b>Calciumcarbonat</b> .....	<b>2</b>
2.1.1	Polymorphie.....	2
2.1.2	Kristallstruktur.....	3
<b>2.2</b>	<b>Kristallisation</b> .....	<b>4</b>
2.2.1	Keimbildung.....	4
2.2.2	Kristallwachstum.....	5
2.2.3	Kristallmorphologie.....	6
<b>2.3</b>	<b>Diffusion</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4</b>	<b>Biomineralisation</b> .....	<b>8</b>
<b>2.5</b>	<b>Biomimetische Materialsynthese</b> .....	<b>10</b>
<b>3.</b>	<b>Zielsetzung</b> .....	<b>12</b>
<b>4.</b>	<b>Experimentalteil</b> .....	<b>13</b>
<b>4.1</b>	<b>Chemikalien</b> .....	<b>13</b>
<b>4.2</b>	<b>Hydrogelsynthesen</b> .....	<b>14</b>
4.2.1	Gelatinegel.....	14
4.2.2	poly-Acrylamid.....	14
4.2.3	Sulfonat-funktionalisierte Copolymere.....	15
4.2.4	Carboxylat-funktionalisierte Copolymere.....	17
4.2.5	Hydrogele mit Additiven.....	18
<b>4.3</b>	<b>Versuchsordnung</b> .....	<b>19</b>
<b>4.4</b>	<b>Charakterisierungsmethoden</b> .....	<b>20</b>
4.4.1	Mikroskopie.....	20
4.4.2	Röntgendiffraktometrie.....	21
4.4.3	Thermoanalyse.....	21
4.4.4	Infrarotspektroskopie.....	21
4.4.5	Elementaranalyse.....	22
4.4.6	Bildanalyse.....	22
4.4.7	Quellung.....	22
<b>5.</b>	<b>Hydrogel-Charakterisierung</b> .....	<b>23</b>
5.1	Sulfonat-funktionalisierte Copolymere.....	23
5.1.1	Funktionelle Monomere.....	23
5.1.2	Netzwerktopographie.....	25
5.2	Carboxylat-funktionalisierte Copolymere.....	27
5.3	Zusammenfassung.....	28

---

<b>6.</b>	<b>Mineralisation in Hydrogelmatrices</b> .....	<b>29</b>
<b>6.1</b>	<b>Mineralisation in Gelatinegel</b> .....	<b>29</b>
6.1.1	Mineralisationsprodukte.....	29
6.1.2	Kompositcharakter.....	31
6.1.3	Polarisationsmikroskopie.....	33
6.1.4	Gefügeuntersuchungen.....	35
6.1.5	Kristallwachstum.....	36
6.1.6	Zusammenfassung.....	39
<b>6.2</b>	<b>Mineralisation in poly-Acrylamid</b> .....	<b>40</b>
6.2.1	Mineralisationsprodukte.....	40
6.2.2	Kompositcharakter.....	42
6.2.3	Polarisationsmikroskopie.....	44
6.2.4	Gefügeuntersuchungen.....	45
6.2.5	Röntgenstrukturanalyse.....	47
6.2.6	Kristallwachstum.....	52
6.2.7	Zusammenfassung.....	58
<b>6.3</b>	<b>Mineralisation in Sulfonat-funktionalisierten Copolymeren</b> .....	<b>59</b>
6.3.1	Mineralisationsprodukte.....	59
6.3.2	Gehalt an funktionellem Monomer.....	61
6.3.3	Netzwerktopographie.....	61
6.3.4	Ortsaufgelöste Untersuchungen.....	62
6.3.5	Vergleich mit poly-Acrylamid.....	65
6.3.6	Zusammenfassung.....	68
<b>6.4</b>	<b>Mineralisation in Carboxylat-funktionalisierten Copolymeren</b> .....	<b>69</b>
6.4.1	Mineralisationsprodukte.....	69
6.4.2	Kompositcharakter.....	70
6.4.3	Strukturuntersuchungen.....	72
6.4.4	Gehalt an funktionellem Monomer.....	72
6.4.5	Verlauf der Mineralisation.....	74
6.4.6	Zusammenfassung.....	76
<b>6.5</b>	<b>Mineralisation in Gegenwart von Additiven</b> .....	<b>77</b>
6.5.1	Mineralisationsprodukte.....	77
6.5.2	Polarisationsmikroskopie.....	79
6.5.3	Zusammenfassung.....	79
<b>6.6</b>	<b>Systemübergreifende Untersuchungen</b> .....	<b>80</b>
6.6.1	Konzentrationsverhältnisse.....	80
6.6.2	Keimbildung.....	82
6.6.3	Mineralisationsgrad.....	84
6.6.4	Zusammenfassung.....	85

---

<b>7.</b>	<b>Vergleichende Diskussion</b> .....	<b>86</b>
<b>7.1</b>	<b>Mineralisation in Hydrogelmatrices</b> .....	<b>86</b>
7.1.1	Netzwerkeffekte.....	86
7.1.2	Wirkungsweise funktioneller Gruppen.....	88
7.1.3	Kristallisationsmechanismen.....	91
<b>7.2</b>	<b>Rückschlüsse auf die Biomineralisation</b> .....	<b>94</b>
7.2.1	Gelatinegel.....	94
7.2.2	poly-Acrylamid.....	95
7.2.3	Sulfonat-funktionalisierte Copolymere.....	96
7.2.4	Carboxylat-funktionalisierte Copolymere.....	96
7.2.5	Hydrogele mit Additiven.....	97
7.2.6	Stufen der Biomineralisation.....	98
<b>8.</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>100</b>
<b>9.</b>	<b>summary</b> .....	<b>102</b>
<b>10.</b>	<b>Literatur</b> .....	<b>104</b>

---

<b>A</b>	Infrarot- <b>A</b> bsorption
<b>AAm</b>	<b>A</b> crylamid
<b>AC</b>	<b>A</b> crylsäure
<b>AES</b>	<b>A</b> tom <b>e</b> missionsspektroskopie
<b>AIS</b>	<b>A</b> llylsulfonsäure
<b>AM</b>	<b>A</b> llymalonsäure
<b>AMPS</b>	2- <b>A</b> crylamido-2- <b>m</b> ethyl-1- <b>p</b> ropansulfonsäure
<b>APoxS</b>	<b>A</b> mmonium <b>p</b> eroxodisulfat
<b>D</b>	<b>D</b> iffusionskoeffizient
<b>DTA</b>	differentielle Thermoanalyse ( <b>d</b> ifferential <b>t</b> hermal <b>a</b> nalysis)
<b>EDTA</b>	Na- <b>E</b> thyl <b>d</b> iamintetraacetat
<b>EDX</b>	Energie-dispersive Röntgenspektroskopie ( <b>e</b> nergy <b>d</b> ispersive <b>X</b> -ray spectroscopy)
<b>erf</b>	Gauß'sches Fehlerintegral
<b>FWHM</b>	Halbwertsbreite ( <b>f</b> ull <b>w</b> idth at <b>h</b> alf <b>m</b> aximum)
<b>G</b>	freie Enthalpie
<b>Gew.-%</b>	Massenprozent
<b>HWB<sub>a</sub></b>	azimutale Halbwertsbreite
<b>IR</b>	<b>I</b> nfrarotspektroskopie
<b>J</b>	Teilchenfluß
<b>KL</b>	<b>K</b> athodolumineszenz
$\lambda$	Wellenlänge
<b>m</b>	Masse
<b>MBAAm</b>	N,N'- <b>M</b> ethylen <b>b</b> isacrylamid
<b>Mol-%</b>	Molprozent
<b>poly-AAm</b>	<b>poly-A</b> crylamid
<b>poly-AAm-5</b>	<b>poly-A</b> crylamid: <b>5</b> % Feststoffgehalt
<b>poly-AAm-10</b>	<b>poly-A</b> crylamid: <b>10</b> % Feststoffgehalt
<b>poly-AAm-AC</b>	<b>poly-A</b> crylamid-co- <b>A</b> crylsäure
<b>poly-AAm-AC-1%</b>	<b>poly-A</b> crylamid-co- <b>A</b> crylsäure: <b>1</b> % Acrylsäure-Monomer
<b>poly-AAm-AC-5%</b>	<b>poly-A</b> crylamid-co- <b>A</b> crylsäure: <b>5</b> % Acrylsäure-Monomer
<b>poly-AAm-AC-10%</b>	<b>poly-A</b> crylamid-co- <b>A</b> crylsäure: <b>10</b> % Acrylsäure-Monomer
<b>poly-AAm-AM</b>	<b>poly-A</b> crylamid-co- <b>A</b> llymalonsäure
<b>poly-AAm-AMPS</b>	<b>poly-A</b> crylamid-co-2- <b>A</b> crylamido-2- <b>m</b> ethyl-1- <b>p</b> ropansulfonsäure
<b>poly-AAm-AIS</b>	<b>poly-A</b> crylamid-co- <b>A</b> llylsulfonsäure
<b>poly-AAm-VIS</b>	<b>poly-A</b> crylamid-co- <b>V</b> inylsulfonsäure

---

<b>poly-L-Asp</b>	<b>poly-L-Asp</b> araginsäure
<b>Q<sub>w</sub></b>	Massenquellungsverhältnis
<b>r<sub>k</sub></b>	kritischer Keimradius
<b>REM</b>	<b>R</b> asterelektronen <b>m</b> ikroskopie
<b>REM-BSE</b>	<b>R</b> asterelektronen <b>m</b> ikroskopie-Rückstreuelektronenmodus ( <b>b</b> ack <b>s</b> cattered <b>e</b> lectrons)
<b>RFA</b>	<b>R</b> öntgen <b>f</b> luoreszenz <b>a</b> nalyse
<b>SAM</b>	<b>s</b> elf- <b>a</b> ssembled <b>m</b> onolayer
<b>SAED</b>	Feinbereichsbeugung ( <b>s</b> electe <b>d</b> - <b>a</b> rea- <b>e</b> lectron- <b>d</b> iffraction)
<b>σ</b>	Grenzflächenspannung
<b>t</b>	Diffusionsdauer
<b>TG</b>	<b>T</b> hermo <b>g</b> ravimetrie
<b>TEM</b>	<b>T</b> ransmissionselektronen <b>m</b> ikroskopie
<b>TMEDA</b>	N,N,N',N'- <b>T</b> etra <b>m</b> ethylethylen- <b>d</b> iamin
<b>Tris</b>	<b>T</b> ris-(hydroxymethyl)-methylamin
<b>VIS</b>	<b>V</b> inyl <b>s</b> ulfonsäure
<b>Vol.-%</b>	Volumenprozent
<b>x</b>	Ortskoordinate
<b>XRD</b>	Röntgendiffraktometrie ( <b>X</b> -ray <b>d</b> iffraction)

## 1. Einleitung

Die belebte Natur erzeugt komplexe anorganisch-organische Kompositmaterialien mit optimal angepaßter Funktion. Unter physiologischen Reaktionsbedingungen entstehen Produkte mit oftmals faszinierenden mechanischen Eigenschaften [Cal95]. Von zentraler Bedeutung für die Biomineralisation ist die Wechselwirkung einer organischen Matrix mit der anorganischen Phase [Bae00]. Die organische Matrix ist sehr komplex aufgebaut: Häufig handelt es sich um ein gelartiges Netzwerk unlöslicher Makromoleküle, das Bereiche mit höherer Dichte polarer Gruppen enthält [Wei97, Add92]. Die Steuerungsmechanismen des biologischen Systems sind ausgesprochen vielfältig. Zwar werden grundsätzliche Phänomene natürlicher Biomineralisationsprozesse beschrieben [Man96], die Wirkungsweise der organischen Matrix auf die biologische Materialabscheidung ist jedoch noch nicht hinreichend verstanden. Das Zusammenspiel der physikalischen Netzwerkstruktur, adsorbierter Makromoleküle und Bestandteilen der Porenlösung ist Gegenstand intensiver Forschung [Pai00, Wil02]. Da sich in biologischen Systemen zahlreiche Einflußgrößen überlagern, ist es nötig, grundsätzliche Prinzipien durch Modellsysteme anzunähern.

Unter Verwendung extrahierter Makromoleküle der organischen Matrix von Muschelschalen konnte der Mineralisationsmechanismus der Perlmutternschicht von Seemuscheln beschrieben werden [Add85, Bel96]. Da die Gitterkonstanten des mineralisierten Aragonits dem -COOH-Gruppenabstand des organischen Templats entsprechen, wird ein epitaktischer Wachstumsmechanismus postuliert. Allerdings sind die Bindungskonstanten von  $\text{Ca}^{2+}$ -Carboxylatkomplexen nicht besonders hoch, so daß es fraglich erscheint, ob eine periodische Anordnung von  $\text{Ca}^{2+}$  hinreichend stabil ist, um die Keimbildung zu induzieren [Man01]. Es werden daher auch kinetischen Grenzflächeneffekten wesentliche Bedeutung für die Keimbildung von Biomineralen eingeräumt [Cal96]: Durch elektrostatische Akkumulation kommt es demnach zu lokaler Anreicherung positiv geladener Gitterbausteine und schließlich zu Mineralisation der anorganischen Phase (ionotropes Modell) [Gre84].

Die Keimbildung von  $\text{CaCO}_3$  auf Sulfonat-terminierten Monolagen ist in Vergleich zu einem unfunktionalisierten Substrat begünstigt [Aiz99]. Die stark polaren Sulfonatgruppen führen offenbar gemäß einem ionotropen Nukleationsmodell zu lokaler Anreicherung von  $\text{Ca}^{2+}$  und setzen somit die Aktivierungsenergie der Kristallisation herab. Demgegenüber wird bei der Kristallisation von Fluorapatit in einem Gelatinegel keine ionotrope Wechselwirkung der biogenen Matrix mit der Kristallphase beobachtet [Kni96, Bus03]. Die resultierenden Mineralisationsprodukte weisen dennoch deutliche Analogien zu Bestandteilen des menschlichen Zahnmaterials auf [Bus01]. In Gegenwart von poly-L-Aspartat, als Modellsubstanz saurer Matrixmoleküle, kristallisieren thermodynamisch metastabile  $\text{CaCO}_3$ -Modifikationen in Gelatine-Xerogel [Fal00]. Offenbar stellt die Untersuchung von Biomineralisationsprozessen in polymeren Gelmatrices ein praktikables Modellsystem der Biomineralisation dar. Da jedoch die chemischen und mikrostrukturellen Eigenschaften des biogenen Gelatinegels nicht gezielt modifiziert werden können, kann die Wirkungsweise dieser Gelmatrix auf die Mineralisation nicht näher eingegrenzt werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die komplexen Wechselwirkungen einer organischen Matrix mit der anorganischen Phase zu entflechten. Ausgehend von der Kristallisation in Gelatinegel wurden weitere Mineralisationsversuche in künstlichen Hydrogelen mit einstellbaren Eigenschaften durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die Gele mit Oberflächengruppen funktionalisiert, die in biologischen Systemen die Materialabscheidung beeinflussen. Der Einfluß der physikalischen Netzwerkstruktur sowie der funktionellen Gruppen auf die Mineralisation wurde herausgestellt. Aus dem Vergleich der Materialabscheidung in unterschiedlichen organischen Matrices ergeben sich Rückschlüsse auf allgemeine Prinzipien der Biomineralisation.

## 2. Grundlagen

Bei der Diskussion der Ergebnisse wird auf allgemeine Kenntnisse der Mineralogie des Calciumcarbonats ( $\text{CaCO}_3$ ), der Kristallisation anorganischer Festkörper sowie diffusiver Transportprozesse Bezug genommen. In den folgenden Kapiteln werden daher einige Grundlagen aufgeführt. Außerdem wird der bisherige, in der wissenschaftlichen Literatur veröffentlichte Kenntnisstand der Biomineralisation und der biomimetischen Materialsynthese zusammengestellt.

### 2.1 Calciumcarbonat

$\text{CaCO}_3$  ist der mengenmäßig am weitesten verbreitete Bestandteil biogener Festkörper [Low89], so daß es sich als anorganisches Modellsystem für die Untersuchung von Biomineralisationsprozessen anbietet. Für das Verständnis der Versuchsergebnisse sind grundsätzliche Kenntnisse der Polymorphie sowie der Kristallstruktur des  $\text{CaCO}_3$  notwendig.

#### 2.1.1 Polymorphie

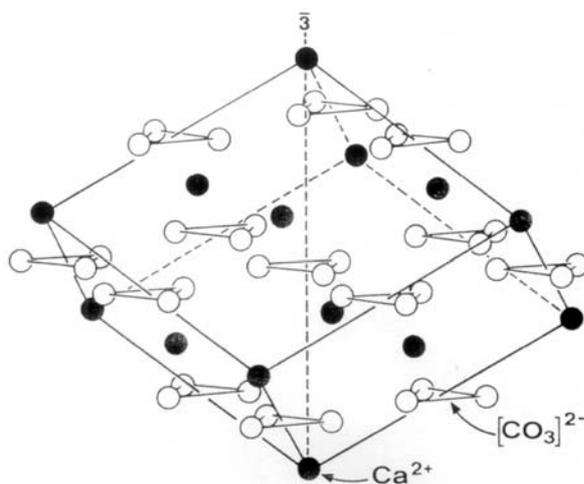
Es sind fünf Modifikationen des kristallinen  $\text{CaCO}_3$  beschrieben. Von diesen polymorphen Phasen bilden jedoch nur die thermodynamisch stabilsten Strukturen (Calcit und Aragonit) in größerem Umfang Biominerale. Vaterit ( $\mu\text{-CaCO}_3$ ) ist ein verhältnismäßig seltenes Biomineral [Low75], als Übergangsphase bei der Ausheilung von mechanischen Defekten einiger Muschelschalen hat es jedoch eine prominente Funktion [Wil63]. Die synthetischen Hochdruckmodifikationen Calcit II und Calcit III sind nicht in der Natur zu finden.

Gemäß der Ostwald-Lussac'schen Stufenregel ist bei der Fällung aus übersättigter Lösung die Kristallisation der löslichsten Modifikation begünstigt. Durch sequentielle Präzipitation kann der Fällungsprozeß weitere metastabile Phasen durchlaufen, bis die unter den jeweiligen Bedingungen thermodynamisch stabile Modifikation entsteht, entsprechend einem maximalen Gewinn freier Enthalpie. Durch kinetische Effekte können jedoch Keimbildung und Umwandlung beeinflußt werden, so daß auch thermodynamisch metastabile Phasen dauerhaft stabilisiert sein können. In einem derartigen Fall ist die Aktivierungsenergie des Phasenübergangs so hoch, daß

sich die Umwandlung nur sehr langsam vollzieht. In dem System  $\text{CaCO}_3$  ist Calcit die thermodynamisch stabile Modifikation, gefolgt von Aragonit und Vaterit. Während Zugabe von Magnesiumionen zu einer  $\text{CaCO}_3$  (aq)-Lösung die Kristallisation von Aragonit begünstigt [Ree83], kann es bei hohen Übersättigungen zu bevorzugter Bildung von Vaterit kommen [Mey65, Gab98]. Bei Anwesenheit organischer Additive wird eine permanente Stabilisierung von Vaterit beobachtet [Sim95, Gow98].

### 2.1.2 Kristallstruktur

Die Kristallstruktur des Calcits läßt sich aus der des Halits ( $\text{NaCl}$ ) ableiten. Dabei sind  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  durch  $\text{Ca}^{2+}$  bzw.  $(\text{CO}_3)^{2-}$  zu ersetzen. Die Elementarzelle ist entlang der dreizähligen Achse komprimiert, so daß eine flächenzentrierte rhomboedrische Zelle mit 6,42 Å Kantenlänge und einem rhomboedrischen Achsenwinkel von 101,92° entsteht (Abbildung 2-1). Um der alternierenden Orientierung der Carbonatgruppen gerecht zu werden, ergibt sich jedoch eine wahre flächenzentrierte Zelle erst durch Verdopplung der Kantenlängen. Das resultierende Rhomboeder entspricht der Gleichgewichtsform des Calcits mit den rhomboedrischen Millerindices  $\{100\}$ . Eine kleinere Elementarzelle läßt sich mit den Parametern  $a_{rh}$  6,37 Å und  $\alpha$  46,08° beschreiben. In der Literatur wird der Indizierung der Formen des Calcits jedoch üblicherweise eine Aufstellung in einem hexagonalen Koordinatensystem zugrunde gelegt. Mit den Gitterkonstanten  $c_{hex} = 17,1$  Å und  $a_{hex} = 5,0$  Å (Achsenverhältnis:  $c:a = 3,419:1$ ) ergibt sich für die Gleichgewichtsform des Spaltrhomboeders somit die Indizierung  $\{10\bar{1}4\}$ .



**Abbildung 2-1:** Anordnung der Ionen in einem Calcit-Spaltrhomboeder (aus [Mat93]).

Calcit kristallisiert in der holoedrischen ditrigonal-skalenoedrischen Kristallklasse ( $\bar{3} 2/m$ ) des trigonalen Kristallsystems. Aus der Kombination der strukturellen Symmetrieelemente (Drehachsen, Inversionszentrum, Spiegelebenen und Gleitspiegelebene) mit dem rhomboedrischen Bravais-Gitter ergibt sich die Raumgruppe  $R \bar{3} 2/c$  (Nr. 167).

Die thermodynamisch metastabilen Phasen Vaterit und Aragonit kristallisieren im hexagonalen ( $6/m 2/m 2/m$ ) bzw. orthorhombischen Kristallsystem ( $2/m 2/m 2/m$ ). Während Vaterit vorzugsweise sphärolitische kugelförmige Aggregate ausbildet, sind Aragonit-Kristalle üblicherweise an ihrem nadeligen Habitus zu erkennen.

## 2.2 Kristallisation

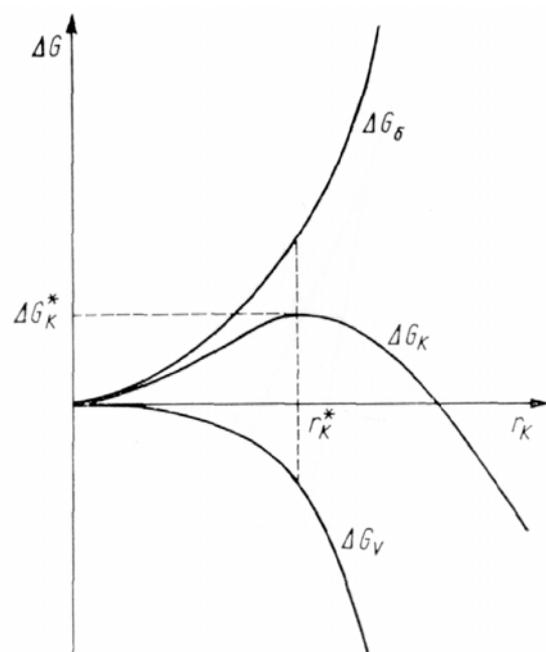
Kristallisation bezeichnet den Vorgang der Bildung von Kristallen in vorher homogenen Systemen [Fal95]. Kristalle können aus der Gasphase, Schmelze oder aus einer Lösung entstehen. Im folgenden wird die Kristallisation aus einer wäßrigen Lösung beschrieben. Grundsätzlich ist dabei zwischen der Bildung kritischer Keime (Keimbildung) und deren Wachstum (Kristallwachstum) zu unterscheiden [Sar94]. Die entstandenen Kristalle weisen eine äußere Form auf (Kristallmorphologie), deren Ausgestaltung auf die kristallographische Struktur der jeweiligen Substanz zurückzuführen ist.

### 2.2.1 Keimbildung

Bei der homogenen Keimbildung bilden sich erste Keime spontan aus einer übersättigten Lösung. Aus thermodynamischer Sicht ist eine Abnahme der freien Enthalpie  $G$  des Systems Voraussetzung spontaner Vorgänge. Die Bildung eines Keims ist mit einer Änderung der freien Enthalpie  $\Delta G_k$  verbunden, die sich in wäßrigen Lösungen aus der Summe eines negativen Volumenbeitrags  $\Delta G_V$  und der positiven Grenzflächenenergie  $\Delta G_\sigma$  ergibt. Für kugelförmige Keime mit dem Radius  $r_k$  errechnet sich somit die Änderung der freien Enthalpie gemäß folgender Gleichung:

$$\Delta G_k = \Delta G_V + \Delta G_\sigma = \frac{4}{3}\pi r_k^3 \frac{\Delta g}{v} + 4\pi r_k^2 \sigma \quad \text{Gleichung 2-1}$$

mit  $\Delta g$  als Differenz der freien Enthalpie von Lösung und Keim (negativer Wert),  $v$  als Molvolumen der Kristallphase und  $\sigma$  als Grenzflächenspannung. Als Funktion des Radius eines kugelförmigen Keims ergibt sich somit der in Abbildung 2-2 dargestellte Verlauf der freien Enthalpie. Die Kurve durchläuft bei einem kritischen Keimradius  $r_k$  ein Maximum. Erst wenn ein Keim unter Aufwendung der Keimbildungsarbeit seine kritische Größe erreicht hat, wird durch weiteres Wachstum die freie Enthalpie des Systems verringert.



**Abbildung 2-2:** Freie Enthalpie der Keimbildung ( $\Delta G_k$ ) als Funktion des Keimradius ( $r_k$ ) (aus [Kle90]).

Sowohl Keimbildungsarbeit als auch kritischer Keimradius werden mit zunehmender Übersättigung einer wäßrigen Lösung kleiner, was die Keimbildung begünstigt [Kle90]. Bei der Kristallisation in stark übersättigten Lösungen können daher bereits extrem kleine Keime (Cluster) stabil sein und unter Abnahme der freien Enthalpie des Systems weiterwachsen. Die Anzahl der je Zeit- und Volumeneinheit gebildeten wachstumsfähigen Keime (Keimbildungsrate)

nimmt als Funktion der Übersättigung zu und erreicht bei großen Übersättigungen einen konstanten Wert. Bei niedrigen Übersättigungen ist die Keimbildungsrate noch sehr gering, so daß in diesem metastabilen Übersättigungsbereich (Ostwald-Miers-Bereich) im wesentlichen bereits bestehende überkritische Keime weiterwachsen [Che84].

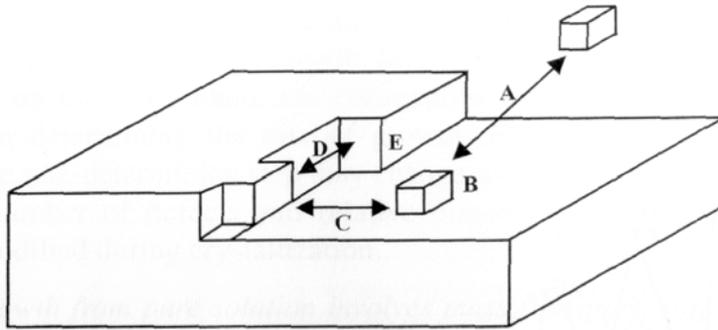
Neben der homogenen Keimbildung kann es auch an Fremdkörpern (z.B. Staub, Gefäßwände) zu heterogener Keimbildung kommen. Dabei bildet sich zunächst aus der übersättigten Lösung eine Adsorptionsschicht auf dem Substrat, gefolgt von der Bildung und dem weiteren Wachstum kritischer Keime in der adsorbierten Schicht [Kle90]. Gegenüber der homogenen Keimbildung nimmt der Beitrag der Grenzflächenenergie im Verhältnis zu dem Volumenbeitrag ab. Daher durchläuft die Kurve der freien Enthalpie bei kleineren Keimradien ein Maximum und es bilden sich bereits bei niedrigerer Übersättigung erste Keime. Keimbildungsarbeit und kritischer Keimradius der heterogenen Keimbildung sind herabgesetzt. Besonders effektiv wird die Grenzflächenenergie herabgesetzt, wenn kristallisierende Phase und Substrat strukturell und chemisch ähnlich sind (Epitaxie).

### 2.2.2 Kristallwachstum

Das Wachstum anorganischer Kristalle erfordert einen Materialfluß zu der Oberfläche der wachsenden Phase sowie die Inkorporation der Wachstumspakete in das Gitter. Der Grad der Übersättigung der Lösung ist daher das wesentliche Kriterium des Kristallwachstums. Unterhalb des Löslichkeitsprodukts der jeweiligen Phase ist der Materialfluß unzureichend, so daß kein Kristallwachstum erfolgt bzw. das Wachstum zum Erliegen kommt. Gelegentlich können auch akkumulierte Oberflächendefekte zu Stagnation des Kristallwachstums führen.

Verallgemeinert läßt sich das Kristallwachstum als sekundäre Keimbildung auf der Fläche eines wachsenden Kristalls beschreiben, vergleichbar der heterogenen Keimbildung. Auf einer Wachstumsfläche gibt es jedoch Lagen mit unterschiedlicher Anlagerungsenergie. Zurückgehend auf die Modellvorstellungen von Kossel [Kos27] und Stranski [Str28] wird daher üblicherweise das Kristallwachstum unter kinetischen Gesichtspunkten betrachtet. In Abbildung 2-3 sind die Anlagerungsmöglichkeiten von Gitterbausteinen an einen wachsenden Kristall schematisch dargestellt („Kossel-Kristall“). Dabei wird der Wachstumsmechanismus in verschiedene Schritte unterteilt, die sich aus den Anlagerungsenergien der jeweiligen Positionen ergeben (Abbildung 2-3): Zunächst erfolgt die Diffusion eines Gitterbausteins aus der Lösung zu der Kristalloberfläche (**A**). Es kommt zu Oberflächenadsorption und Dehydratation (**B**). Um zu einer energetisch günstigen Position zu gelangen, diffundieren die Gitterbausteine auf der Oberfläche zu bereits bestehenden Stufen (zweidimensionale Diffusion) (**C**). Entlang der Stufen erfolgt eindimensionale Diffusion zu energetisch besonders günstigen Halbkristallagen und Inkorporation in den wachsenden Kristall (**D** und **E**). Für jeden dieser aufeinanderfolgenden Schritte muß eine unterschiedliche Energiebarriere überwunden werden, so daß die Wachstumskinetik durch den jeweils langsamsten Prozeß bestimmt wird. In Elektrolytlösungen ist in der Regel die Dehydratation der Ionen der geschwindigkeitsbestimmende Schritt [Kle90]. Allerdings können Verunreinigungen der Lösung durch selektive Wachstumsinhibition

bestimmte Flächen „vergiften“ oder durch Anreicherung vor der Wachstumsfront die Kristallisationskinetik verändern [Che84]. Im wesentlichen ist der dominierende Wachstumsprozeß jedoch von der Übersättigung der Kristallisationslösung geprägt.



**Abbildung 2-3:** Schematische Darstellung der Anlagerungsmöglichkeiten von Gitterbausteinen auf einem wachsenden Kristall (aus [Man01]).

Bei hohen Übersättigungen ist das Kristallwachstum von der Bildung zahlreicher Flächenkeime auf der Kristallfläche dominiert (Polynukleation). Diese zweidimensionalen Wachstumsinseln wachsen unter Anlagerung von Ionen, können ihrerseits jedoch auch von neuen Flächenkeimen belegt werden („birth and spread“) [Man01]. Dieser komplexe Wachstumsmechanismus ist in besonderem Maße von den jeweiligen Übersättigungsverhältnissen abhängig. Der „klassische“ Fall des Kristallwachstums spiegelt die idealen kinematischen Modellvorstellungen des Kossel-Kristalls wieder. Unter moderaten Übersättigungsverhältnissen muß zur Bildung eines zweidimensionalen Flächenkeims eine deutlich höhere Energie als zur Anlagerung der Gitterbausteine an Halbkristallagen aufgebracht werden. Demzufolge werden bereits aktive Lagen vervollständigt bevor sich eine neue Lage bildet. Durch dieses lagenweise Wachstum entstehen idiomorphe Kristallformen, wie sie bei geogenen Kristallen häufig beobachtet werden. Bei geringen Übersättigungen kann die Energiebarriere zur Bildung zweidimensionaler Flächenkeime nicht überwunden werden, so daß die Anlagerung von Gitterbausteinen lediglich an Halbkristallagen, die permanent durch Schraubenversetzungen generiert werden, erfolgt [Bur51]. Unter realen Bedingungen ist eine Trennung der unterschiedlichen Wachstumsmechanismen nicht möglich, vielfach überlagern sich verschiedene Mechanismen.

### 2.2.3 Kristallmorphologie

In der Regel ergibt sich die Morphologie eines Kristalls aus der Summe der Formen des jeweiligen Kristallgitters. Nach der althergebrachten Vorstellung von Haüy (1743-1822) setzen sich Kristalle aus Bausteinen zusammen, deren Gestalt ihren Spaltstücken entspricht (Dekreszenztheorie [Haü84]). In neuerer Zeit führt man die Morphologie eines Kristalls üblicherweise auf unterschiedliche Verschiebungsgeschwindigkeiten der einzelnen Kristallflächen zurück. Ausgehend von einem isometrischen Keimkristall wird der Anteil der Flächen mit der größten Verschiebungsgeschwindigkeit im zeitlichen Verlauf abnehmen. Im Ergebnis werden diejenigen Flächen mit der langsamsten Verschiebungsgeschwindigkeit die Morphologie eines Kristalls prägen. Üblicherweise entsprechen die resultierenden Formen den Flächen mit

verhältnismäßig dichter Packung der Atome. Niedrige Verschiebungsgeschwindigkeiten sind auf geringe Oberflächenenergien zurückzuführen, so daß sich aus einem Minimum der Oberflächenenergien der möglichen Flächenkombinationen die Gleichgewichtsform eines Kristalls ergibt [Rös91].

Die Verschiebungsgeschwindigkeiten reagieren empfindlich auf die physikalisch-chemischen Parameter während der Kristallisation. Die wesentliche Einflußgröße der Kristallisation ist die Übersättigung des Systems, hohe Übersättigung führt zu größeren Wachstumsraten. In Abhängigkeit von den jeweiligen Übersättigungsverhältnissen können sich jedoch auch die relativen Verschiebungsgeschwindigkeiten verändern, so daß Kristalle mit unterschiedlichen Anteilen der jeweiligen Flächen (Habitus) entstehen. Zusätze zu einer Kristallisationslösung können die Übersättigung des Systems beeinflussen oder selektiv mit einzelnen Kristallflächen wechselwirken. Dabei modifizieren die Additive die flächenspezifischen Oberflächenenergien bzw. verändern durch Anlagerung an aktive Wachstumsplätze (z.B. Halbkristallagen) die Wachstumskinetik. In biologischen Systemen erfolgt eine Steuerung der Kristallmorphologie sowohl durch Adsorption organischer Moleküle an bestimmten Kristallflächen [Sik96] als auch durch Feinjustierung der lokalen Übersättigungsverhältnisse [Man96].

### 2.3 Diffusion

Unter dem Begriff Diffusion werden alle Bewegungsvorgänge in einem System zusammengefaßt, bei denen Moleküle aufgrund eines räumlich unterschiedlichen chemischen Potentials wandern. Eine gerichtete Diffusion im stationären Zustand läßt sich durch das erste Fick'sche Gesetz beschreiben:

$$J = -D \cdot \frac{dc}{dx}$$

J: Fluß im stationären Zustand  
D: Diffusionskoeffizient  
dc/dx: Konzentrationsgradient

**Gleichung: 2-2**

Das zweite Fick'sche Gesetz setzt die Geschwindigkeit der Konzentrationsänderung an einem bestimmten Ort mit der räumlichen Veränderung der Konzentration in Bezug:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}$$

c: Konzentration  
t: Zeit  
x: Ortskoordinate  
D: Diffusionskoeffizient

**Gleichung: 2-3**

Das zweite Fick'sche Diffusionsgesetz kann durch Einsetzen definierter Randbedingungen gelöst werden. Die Randbedingungen besagen erstens, daß die Konzentration im gesamten System endlich ist, und zweitens, daß die Teilchenzahl zu jedem Zeitpunkt dem Anfangswert entspricht [Gli00]. Bei der Diffusion aus einem ausgedehnten Reservoir in einen Gelkörper ist die zweite

Bedingung nicht erfüllt, so daß Konzentrationsprofile durch folgende Gleichung berechnet werden müssen [Gar91]:

$$c(x,t) = c_0 \cdot \left( 1 - \operatorname{erf} \frac{x}{2\sqrt{D \cdot t}} \right)$$

c: Konzentration  
 $c_0$ : Ausgangskonzentration  
 x: Ortskoordinate  
 t: Diffusionsdauer  
 erf: Gauß'sches Fehlerintegral

**Gleichung: 2-4**

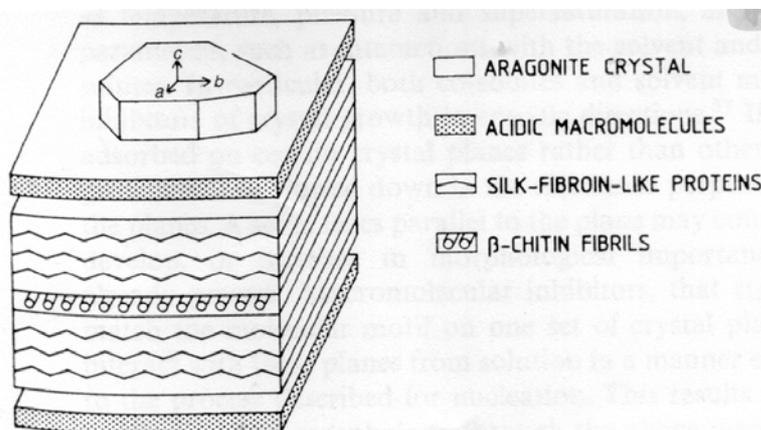
Allerdings lassen sich Diffusionsprofile nur für den semi-infiniten Fall der Diffusion analytisch beschreiben. Die Diffusion in einem finiten System muß durch numerische Simulationen angenähert werden [Hen86].

## 2.4 Biomineralisation

In biologischen Systemen kommt es vielfach zu Abscheidung anorganischer Festkörper, die in dem Organismus eine herausragende Funktion ausüben. Derartige Biomineralisationsprodukte zeichnen sich durch bemerkenswerte Eigenschaften aus. So wird bei der Biomineralisation von Muschelschalen Calciumcarbonat abgeschieden [Wei84], wobei die mechanischen Eigenschaften der biogenen Phase denen von  $\text{CaCO}_3$  rein anorganischen Ursprungs deutlich überlegen sind. Es zeigt sich, daß die Biegebruchfestigkeit von Perlmutter (130 MPa) in der Größenordnung technischer Strukturkeramiken liegen kann [Cal95]. Allerdings sind die Synthesebedingungen von Biomineralen, im Vergleich zu den meisten technischen Keramiken, wesentlich moderater. Die Abscheidung erfolgt unter physiologischen Bedingungen, die Temperaturen liegen deutlich unter 100°C.

Biomineralisationsprozesse basieren auf einem komplexen Wechselspiel organischer Bestandteile und dem abzuscheidendem Festkörper. Verallgemeinert lassen sich Biomineralisationsprozesse in vier aufeinanderfolgende Stufen gliedern [Man96]: Zunächst stellt der Organismus ein Reaktionsvolumen zur Verfügung (*supramolekulare Vororganisation*). Häufig erfolgt die Mineralisation in einem makromolekularen Netzwerk, das nicht selten eine gelartige Struktur aufweist. In diesem Netzwerk kann es designierte Bereiche geben, die aufgrund ihrer molekularen Eigenschaften zu spezifischer Materialabscheidung führen (*molekulare Oberflächenerkennung*). Die dritte Stufe der Biomineralisation ist durch das Kristallwachstum gekennzeichnet. Dabei können Wachstumsrichtung und Größe der Mineralisationsprodukte durch die Ausgestaltung der organischen Matrix kontrolliert werden (*vektorielle Regulierung*). Die einfachste Form der vektorialen Regulierung ergibt sich aus der Begrenzung des Reaktionsvolumens. Eine mesoskopische bzw. makroskopische Strukturierung der Biomineralisationsprodukte kann zu komplexen, oftmals hierarchisch strukturierten Festkörpern führen (*zelluläre Konstruktion*). Die bemerkenswerten mechanischen Eigenschaften zahlreicher Biominerale sind auf den Zusammenbau einzelner mineralischer Segmente zu einer organisierten Überstruktur zurückzuführen [Low89].

Prominente Beispiele der Biomineralisation sind die Knochen und Zähne der Wirbeltiere [Wei86, Bus01], die calcitische Vogelei-Schale [Fin92] und die Schale von Seemuscheln [Wei97]. Während Knochen und Zähne aus Calciumphosphat mit variabler stöchiometrischer Zusammensetzung bestehen, setzen sich Eierschalen und die Perlmutschicht der Muscheln aus  $\text{CaCO}_3$  in den Modifikation Calcit bzw. Aragonit zusammen. Gemeinsam ist den drei Beispielen, daß die Abscheidung von einer organischen Matrix reguliert wird. Knochen entsteht durch Kristallisation plattiger Nanokristalle in Hohlräumen zwischen benachbarten Tropokollagen-Strängen [Wei99]. Die Kristallisation wird jedoch maßgeblich von ionischen, nicht-kollagenen Proteinen in der Körperflüssigkeit beeinflusst [Bra99]. Die calcitische Eierschale ist das Ergebnis sphärolitischer Kristallisation ausgehend von zahlreichen benachbarten Keimbildungszentren. Während der Ort der Keimbildung durch die organische Matrix vorgegeben wird, ist das weitere Kristallwachstum nur unwesentlich beeinflusst. Bei der Mineralisation des Perlmutter erfolgt die Materialabscheidung auf einem organischen Templat, das aus einem Netzwerk unpolarer Moleküle und adsorbierten Proteinen besteht. Die Keimbildung wird durch die ionischen funktionellen Gruppen der adsorbierten Makromoleküle hervorgerufen (Abbildung 2-4). Vektorielle Regulierung der Mineralisation ergibt sich aus der Strukturierung der extrazellulären Matrix. Einzelne Kristallite sind von einer organischen Hülle umgeben und befinden sich zwischen zwei Membranen mit etwa 500 nm Abstand [Wat65]. In einigen Spezies ermöglichen kleine „Mineralbrücken“, die durch Nanoporen der organischen Membranen wachsen, die Ausrichtung benachbarter Kristallindividuen [Sch97]. Nach Verwachsung zahlreicher, zunächst unabhängiger Kristallite entsteht ein kristallines Gefüge mit bemerkenswerten mechanischen Eigenschaften.



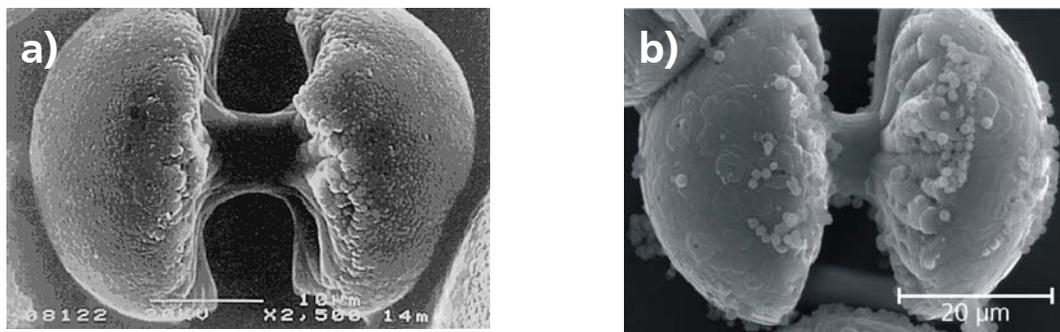
**Abbildung 2-4:** Blockdiagramm der orientierten Keimbildung von Aragonit bei der Mineralisation von Perlmutter (aus [Wei97]).

Bei der Untersuchung unterschiedlichster Biominerale zeigte sich, daß die Wirkungsweise der organischen Matrix auf die Mineralisation den wesentlichen Ansatzpunkt zum Verständnis der Biomineralisation darstellt: Die organische Matrix stellt zunächst ein Reaktionsvolumen zur Verfügung, ionische funktionelle Gruppen beeinflussen die Keimbildung und durch die räumliche Anordnung der Mineralisationsprodukte in dem Netzwerk ist eine mesoskopische Strukturierung der Biomineralisationsprodukte möglich. Offensichtlich müssen die rein physikalischen Effekte der organischen Matrix von der Wirkungsweise funktioneller Gruppen unterschieden werden.

## 2.5 Biomimetische Materialsynthese

Da bei der Biomineralisation trotz moderater Synthesebedingungen Materialien mit herausragenden Eigenschaften entstehen, gewinnen biomimetische bzw. biologisch inspirierte Synthesestrategien in den letzten Jahren an Bedeutung. Dabei geht es weniger um eine exakte Kopie der biologischen Materialsynthese als um das Verständnis fundamentaler Prinzipien und deren Übertragung in handhabare Versuchsanordnungen [Bun94].

In unmittelbarer Anlehnung an Biomineralisationsprozesse wurde die Materialabscheidung in polymeren Netzwerken untersucht. Kristallisation von Fluorapatit in Gelatinegel-Matrices führt zu Kompositmaterialien mit ungewöhnlicher Mikrostruktur, die Analogien zu natürlichem Dentin aufweisen [Bus01, Bus03]. Die organische Matrix ruft einen fraktalen Wachstumsmechanismus hantelähnlicher Kristalle hervor (Abbildung 2-5a) [Kni96]. In eigenen Versuchen konnten die Ergebnisse reproduziert werden (Abbildung 2-5b), wobei sich zeigt, daß das Kristallwachstum hochspezifisch für die verwendete Gelatinegel-Matrix ist. Offensichtlich kann dieses Gel als ein Modellsystem von Biomineralisationsprozessen eingesetzt werden. Untersuchungen der Mineralisation von  $\text{CaCO}_3$  in Gelatinegel [Bos96, Sch98] weisen auf eine Wechselwirkung der organischen Matrix mit den Mineralisationsprodukten hin. Nicht-kollagene Additive, als Bestandteile des Hydrogels, üben einen wesentlichen Effekt auf Morphologie und Polymorphie der präzipitierten Kristalle aus [Fal00]. Bei der Mineralisation in Gelatine-Xerogelfilmen wurde ein Zusammenhang zwischen der Porenstruktur und der Modifikation des  $\text{CaCO}_3$  beobachtet [Fal97].



**Abbildung 2-5:** a) Fluorapatit-Gelatine-Komposit nach Doppeldiffusion in Gelatinegel [Kni96], b) Reproduktion der Mineralisation in einem eigenen Versuchsansatz.

Natürlichen Biomineralisationsprozessen weniger nah verwandt ist die Materialabscheidung auf self-assembled monolayers (SAMs). Dabei können ionische funktionelle Gruppen mit einer übersättigten Mineralisationslösung wechselwirken und die Materialabscheidung beeinflussen. Für die Synthese von Schichten mit einer  $\text{TiO}_2$ -Zielstöchiometrie auf Silicium-wafern wird ein biologisch inspirierter Ansatz verfolgt: Stark polare, Sulfonsäure-haltige Silane organisieren sich auf dem Substrat und bilden Monolagen mit sauren Endgruppen. Die Abscheidung von  $\text{TiO}_2$  auf derart funktionalisierten Substraten führt zu teilkristallinen, oxidkeramischen Schichten [DeG96]. Bei der Mineralisation von  $\text{CaCO}_3$  auf Sulfonat-terminierten SAMs konnte eine begünstigte Keimbildung infolge elektrostatischer Wechselwirkung der Kristallphase mit den ionischen funktionellen Gruppen beobachtet werden [Aiz99]. Es ist jedoch bisher nicht geklärt, ob die biomimetische Kristallisation durch epitaktische Effekte hervorgerufen wird oder ob die schlichte

---

Anwesenheit polarer funktioneller Gruppen die Mineralisation beeinflusst: Bei der Mineralisation unter Langmuir-Filmen wurde eine zweidimensionale strukturelle Übereinstimmung zwischen den polaren Endgruppen und den Netzebenenabständen der Kristallphase beobachtet [Lit97]. Allerdings sprechen Abweichungen von 15-30% gegen diese vereinfachte Vorstellung [Hey94]. Die Mineralisation auf „flexiblen“ Oberflächen kann daher auch mit einer hohen Dichte funktioneller Gruppen und einem ionotropen Nukleationsmechanismus beschrieben werden [Gre84, Cal96].

### 3. Zielsetzung

Da natürliche Biomineralisationsprozesse auf komplexe Wechselwirkungen zahlreicher Parameter zurückgehen, ergibt sich die Notwendigkeit, die Wirkungsweise der verschiedenen Einflußgrößen isoliert zu untersuchen. Ein besonderes Augenmerk soll dabei dem Effekt der physikalischen Netzwerkstruktur einer organischen Modellmatrix sowie dem Einfluß ionischer funktioneller Gruppen auf die Materialabscheidung gelten. Als Modellsystem zur Aufklärung allgemeiner Prinzipien der Biomineralisation soll daher die biomimetische Kristallisation in funktionalisierten Hydrogelmatrixen untersucht werden. In Analogie zu natürlichen Proteingerüsten sollen die Gelnetzwerke mit ionischen Gruppen modifiziert werden. Vergleichende Untersuchungen der Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$ , als exemplarisches „Biomaterial“, sollen den Effekt der organischen Modellschubstanz auf Keimbildung, Wachstumsmechanismus und Morphogenese herausstellen.

Voraussetzung der Versuche ist die Synthese von Hydrogelen, die in Doppeldiffusionsexperimenten als Mineralisationsmatrix eingesetzt werden können. Durch Reaktion geeigneter Edukte sollen Hydrogele mit unterschiedlicher Art und variablem Gehalt funktioneller Gruppen synthetisiert werden. Verlässliche Aussagen zu der Wirkungsweise der Funktionalitäten sind nur zu erwarten, wenn es möglich ist, den Gehalt in dem jeweiligen Gelnetzwerk einzustellen. Im Verlauf der Doppeldiffusion darf es daher nicht zu selektiver Ausschwemmung einzelner Bestandteile der Gelmatrix kommen. Durch die Art der Reaktionsführung sollen außerdem verschiedene mikrostrukturelle Geleigenschaften eingestellt werden.

Die anorganischen Mineralisationsprodukte sollen durch geeignete Methoden charakterisiert werden. Mikroskopische Untersuchungen an Produkten aus verschiedenen Versuchsansätzen werden Aufschlüsse über typische Erscheinungsformen in den jeweiligen Matrixen ergeben. Zeitaufgelöste Versuchsreihen sowie der Vergleich der Mineralisationsprodukte aus unterschiedlichen Bereichen der Gelkörper lassen Erkenntnisse zur Morphogenese erwarten. Bei der Biomineralisation bilden sich oftmals Kompositmaterialien aus einem anorganischen Festkörper und der inkorporierten organischen Matrix. An den biomimetischen Mineralisationsprodukten werden sich vergleichbare Eigenschaften thermoanalytisch nachweisen lassen. Die räumliche Verteilung der organischen Matrix in einem Kompositpartikel sowie das allgemeine Gefüge der Mineralisationsprodukte soll untersucht werden.

Aus der umfassenden Charakterisierung der Mineralisationsprodukte werden sich allgemeine Merkmale der Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  in den jeweiligen Hydrogelmatrixen ergeben. Der Vergleich der Mineralisation in Gelen mit variablen chemischen und mikrostrukturellen Eigenschaften wird Aussagen zu den jeweiligen Kristallisationsmechanismen ermöglichen. Rückschlüsse auf die Biomineralisation sollen herausgestellt werden.

## 4. Experimentalteil

### 4.1 Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien wurden ohne weitere Reinigung und Trocknung eingesetzt. Als Lösungsmittel für die Hydrogelsynthese und für die Mineralisationslösungen wurde Reinstwasser (Leitfähigkeit 0,055  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) verwendet. In Tabelle 4-1 sind die verwendeten Chemikalien mit Angabe der Reinheit und der Hersteller aufgeführt.

Die Monomere für die Hydrogelsynthese, Radikalstarter und NaOCl-Lösung wurden in einem Kühlschrank bei 4°C gelagert, poly-L-Aspartat bei einer Temperatur von -18°C. Die bei der Hydrogelsynthese eingesetzten Stammlösungen wurden unmittelbar vor der Synthese angesetzt.

**Tabelle 4-1:** Übersicht der verwendeten Chemikalien mit Abkürzungen und Hersteller.

Hersteller	Chemikalie
ABCR	Natriumallylsulfonat (AIS), 35% in H <sub>2</sub> O
Aldrich	2-Acrylamido-2-methyl-1-propansulfonsäure (AMPS), 99%
	Ammoniumperoxodisulfat (APoxS), $\geq 98\%$
	Ascorbinsäure (C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> ), 99%
	Gelatine, 300 Bloom
	Kaliumbromid (KBr), $\geq 99\%$
	Manganchlorid (MnCl <sub>2</sub> ), $\geq 99\%$
	Natriumacrylat (AC), 97%
	Natriumazid (NaN <sub>3</sub> ), 99%
	Natriumhydrogencarbonat (NaHCO <sub>3</sub> ), $\geq 99,7\%$
	N,N,N',N'-Tetramethylethylen-diamin (TMEDA), 99%
	N,N'-Methylenbisacrylamid (MBAAm), 99%
	Tris-(hydroxymethyl)-methylamin (Tris), $\geq 99,8\%$
Alfa Aesar	Calciumchlorid (CaCl <sub>2</sub> ), 99%
Fluka	Acrylamid (AAm), $\geq 99\%$
	Natriumallylmalonat (AM), $\geq 98\%$
Merck	Na-Ethylendiamintetraacetat (EDTA)
Riedel-de Haën	Natriumhypochlorit (NaOCl), 6-14% Chlor aktiv
	Natriumvinylsulfonat (VIS), 25% in H <sub>2</sub> O
Sigma	Poly-L-Asparaginsäure (Poly-L-Asp)

## 4.2 Hydrogelsynthesen

Im folgenden wird die Synthese der für die Mineralisationsversuche verwendeten Hydrogele beschrieben. Die Herstellung der Gele wurde, soweit möglich, standardisiert: Die unterschiedlichen Hydrogele weisen einen einheitlichen Massenanteil von 10% organischer Substanz auf, die Bedingungen der Alterung und Auslaugung gleichen sich. Sulfonat- und Carboxylat-funktionalisierte Copolymere wurden in Anlehnung an die Herstellung des unfunktionalisierten poly-AAm synthetisiert, so daß die Effekte der Gelmatrices auf die Mineralisation von  $\text{CaCO}_3$  unmittelbar zu vergleichen sind.

### 4.2.1 Gelatinegel

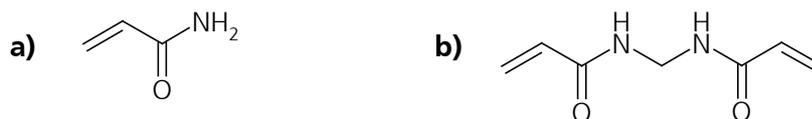
Gelatinegel wird in Anlehnung der bei Kniep *et al.* beschriebenen Synthese hergestellt [Kni96]. Die Gele enthalten 10 Gew.-% Gelatine (300 Bloom) und 0,1 Gew.-% Natriumazid ( $\text{NaN}_3$ ), um Fäulnis der organischen Matrix während der Mineralisationsexperimente zu verhindern. Nach Zugabe von Gelatine und  $\text{NaN}_3$  zu deionisiertem Wasser wird das Gemisch für 20 Minuten auf  $70^\circ\text{C}$  erhitzt. Anschließend wird die Polymerlösung in die Mittelstücke einer Doppeldiffusionsanordnung gegossen. Während der Abkühlung verfestigt sich das Gelatinegel. Um eine vollständige Gelierung zu gewährleisten, wird das Hydrogel 48 Stunden bei Raumtemperatur gelagert. Danach werden die Gelkörper vier Tage in einer 0,05 M Tris-(hydroxymethyl)-methylamin Lösung (Tris), die mit 2 M Salzsäure (HCl) auf einen pH-Wert von 8,35 eingestellt wurde (Tris-HCl), ausgelaugt. Mit einer Einstich-pH-Elektrode wurde nach vier Tagen Auslaugung im gesamten Gelvolumen ein pH-Wert von 8,35 nachgewiesen.

### 4.2.2 poly-Acrylamid

Poly-Acrylamid-Hydrogele werden aus den Monomeren Acrylamid (AAm) (Abbildung 4-1a) und N,N'-Methylenbisacrylamid (MBAAm) (Abbildung 4-1b) in einem Molverhältnis von 29:1 synthetisiert. Die wäßrige Polymerisationslösung weist standardmäßig eine Gesamtmonomerkonzentration von 1,4 mol/l auf. Dies entspricht einem Massenanteil von 10% Monomer innerhalb des Hydrogels. Um den Effekt der Netzwerkstruktur auf die Materialabscheidung in poly-AAm-Netzwerken zu untersuchen, wurden außerdem Hydrogele mit 5 bzw. 20 Gew.-% Monomer synthetisiert. Als Starter der radikalischen Polymerisation wird Ammoniumperoxodisulfat (APoS) eingesetzt, katalysiert wird die Polymerisation von N,N,N',N'-Tetramethylethylen-diamin (TMEDA). Die Konzentrationen von APoS und TMEDA betragen 1,8 mmol/l bzw. 10,1 mmol/l.

Nach Zugabe des Radikalstarters wird die Polymerisationslösung weitere 5 Minuten bei hoher Drehzahl mit einem Magnetrührer gerührt. Daraufhin wird die Lösung in die Mittelstücke einer Doppeldiffusionsanordnung (vgl. **4.3**) gefüllt. Anschließend wird die polymerisierende Lösung eine Stunde bei  $45^\circ\text{C}$  in einem Trockenschrank gelagert um eine homogene Polymerisation der Gelkörper zu gewährleisten. Dabei erfolgt die Gelierung der Polymer-Lösung nach etwa 7 Minuten. Nach dem Gelpunkt bilden sich jedoch noch weitere Vernetzungspunkte innerhalb der

Gelmatrix aus [Bri90]. Die Lagerung bei 45°C führt daher, im Gegensatz zu Alterung bei Raumtemperatur, zu einer verhältnismäßig glatten Oberfläche und homogenen Struktur der Gelkörper. Die gelierten Hydrogele altern weitere 48 Stunden bei Raumtemperatur bevor sie vier Tage in einer 0,05 M Tris-HCl Lösung (pH-Wert: 8,35) ausgelaugt werden. Infolge der Auslaugung stellt sich in der Porenlösung ein pH-Wert von 8,35 ein, nicht-kovalent im Netzwerk gebundene Monomere werden ausgeschwemmt. In Tabelle 4-2 sind die Ansatzgrößen der Synthese von poly-AAm zusammengefaßt.



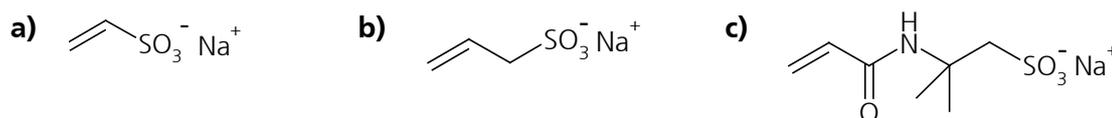
**Abbildung 4-1:** a) Strukturformel des Acrylamid, b) Strukturformel des Quervernetzers N,N'-Methylenbisacrylamid.

**Tabelle 4-2:** Ansatzgrößen der poly-AAm Synthese.

H <sub>2</sub> O [ml]	AAm		MBAAm		TMEDA		APoxS	
	[g]	[mmol]	[g]	[mmol]	[μl]	[mmol]	[μl]	[mmol]
90,0	9,3	130,8	0,7	4,5	150	0,99	400	0,18

### 4.2.3 Sulfonat-funktionalisierte Copolymere

Die Synthese Sulfonat-funktionalisierter Copolymere basiert auf dem Syntheseansatz des reinen poly-AAm (vgl. 4.2.2). AAm und MBAAm werden entweder zusammen mit Na-Vinylsulfonat (VIS) (Abbildung 4-2a), Na-Allylsulfonat (AIS) (Abbildung 4-2b) oder Na-2-Acrylamido-2-methyl-1-propansulfonat (AMPS) (Abbildung 4-2c) in deionisiertem Wasser gelöst. Analog zu der Synthese des unfunktionalisierten poly-AAm wird die Copolymerisation durch das Radikalstartersystem APoxS-TMEDA initiiert. Das Gesamtmonomer/Quervernetzer Verhältnis (Molverhältnis: AAm + (VIS, AIS oder AMPS) zu MBAAm) wird mit einer Gesamtmonomerkonzentration von 1,35 mol/l auf einen Wert von 29:1 eingestellt. Der Anteil Sulfonat-haltiger Monomere (VIS, AIS oder AMPS) der Polymerisationslösung variiert von 0 bis 20 Mol-% (relativ zu AAm).

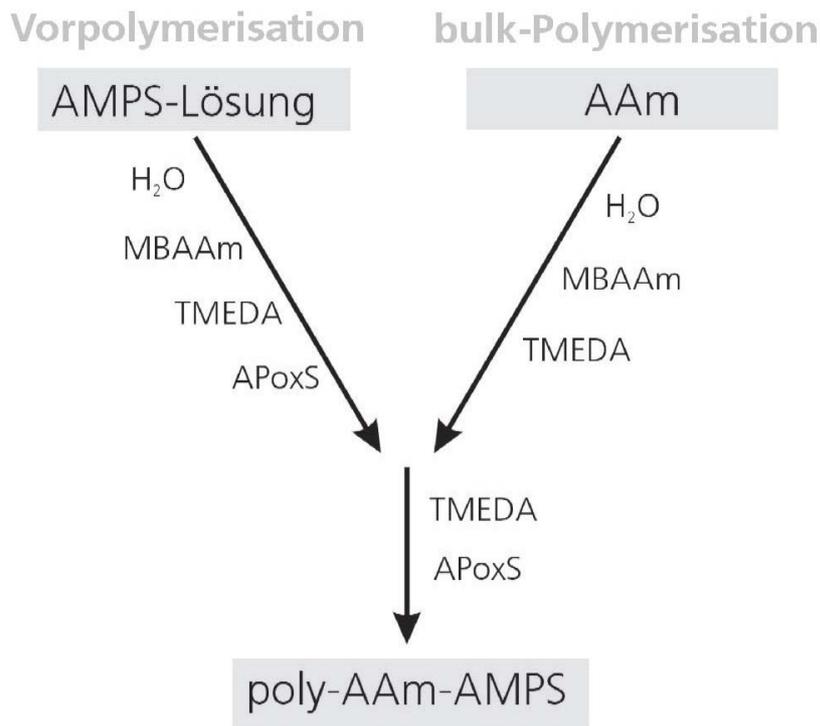


**Abbildung 4-2:** a) Strukturformel des Na-Vinylsulfonat, b) Strukturformel des Na-Allylsulfonat, c) Strukturformel des Na-2-Acrylamido-2-methyl-1-propansulfonat.

Für die Copolymersynthese werden 0,1 M Stammlösungen der VIS-, AIS- und AMPS-Monomere eingesetzt. Der pH der AMPS-Lösung wird durch Titration mit 3 M NaOH-Lösung auf einen Wert von 7,0-7,4 eingestellt, wäßrige Lösungen von VIS und AIS weisen bereits ohne Zugabe von NaOH-Lösung einen pH-Wert von 7,4 auf. Nach Mischung der Monomere wird TMEDA und APoS der Polymerisationslösung beigemischt (Konzentration in der Lösung 10,1 bzw. 1,8 mmol/l), etwa 4 Minuten nach Starter-Zugabe geliert die Polymerisationslösung. Alterung und Auslaugung der Gelkörper werden analog der Synthese des unfunktionalisierten poly-AAm durchgeführt.

Neben dieser „statistischen“ Copolymerisation (zufällige Verteilung der unterschiedlichen Monomere im Netzwerk), werden Copolymere mit heterogener Verteilung der AMPS-Monomere in dem Copolymernetzwerk bzw. mit unterschiedlicher *Netzwerktopographie* synthetisiert. Zu diesem Zweck wird die Copolymersynthese in zwei Schritten durchgeführt (Abbildung 4-3): Während der *Vorpolymerisation* wird die AMPS-Stammlösung mit Wasser verdünnt und mit Quervernetzer (MBAAm) versetzt. Nach kompletter Lösung des MBAAm werden TMEDA und APoS der Monomerlösung zugegeben. Durch Variation des Quervernetzer-Gehalts während der Vorpolymerisation des AMPS ist es möglich, Copolymere mit unterschiedlichem Grad der AMPS-Quervernetzung herzustellen. Bei einem Molverhältnis AMPS : MBAAm von 40 : 1 sind die AMPS-Monomere innerhalb des Copolymers nur wenig quervernetzt („Block“-Copolymer). Demgegenüber ergeben sich bei einem AMPS : MBAAm Verhältnis von 4 : 1 AMPS-quervernetzte Copolymere („Cluster“-Copolymer). Nach Starter-Zugabe wird die Vorpolymerisations-Lösung 30 Minuten mit einem Magnetrührer gerührt, um die Gelierung des makroskopischen Lösungsvolumen zu unterbinden. Dennoch ist eine radikalische Polymerisation von Clustern bzw. Segmenten der AMPS-Monomere zu erwarten.

Simultan zu diesem Vorpolymerisationsschritt werden AAam und MBAAm in deionisiertem Wasser gelöst und mit TMEDA versetzt (*bulk-Polymerisation*). Aus Gründen der Vergleichbarkeit ist der Gesamt-Quervernetzergehalt während der Synthese der unterschiedlichen poly-AAm-AMPS-Copolymere einheitlich. Daher wird der bulk-Polymerisationslösung des stark AMPS-quervernetzten Copolymers (AMPS : MBAAm = 4 : 1) weniger MBAAm zugegeben, als der entsprechenden Lösung des gering AMPS-quervernetzten Hydrogels (AMPS : MBAAm = 40 : 1). 30 Minuten nach Starterzugabe wird die Vorpolymerisationslösung in die bulk-Polymerisationslösung gegossen. Um eine vollständige Homogenisierung zu gewährleisten, wird die resultierende Lösung 5 Minuten gerührt, bevor die verbleibende Startermenge zugegeben wird. Nach etwa 5 Minuten erfolgt die Gelierung, Alterung und Auslaugung mit Tris-HCl werden analog der poly-AAm Synthese durchgeführt. Die Ansatzgrößen der Synthese der poly-AAm-AMPS-Copolymere sind in Tabelle 4-3 aufgeführt.



**Abbildung 4-3:** Fließdiagramm der Synthese von poly-AAm-AMPS-Copolymeren mit AMPS-Quervernetzung; die AMPS-Quervernetzung erfolgt in einer „Vorpolymerisationslösung“, die mit der „bulk-Polymerisationslösung“ vermischt wird.

**Tabelle 4-3:** Ansatzgrößen der Synthese Sulfonat-funktionalisierter Copolymere.

H <sub>2</sub> O	AAm		MBAAm		AMPS		TMEDA		APoxS	
[ml]	[g]	[mmol]	[g]	[mmol]	[g]	[mmol]	[μl]	[mmol]	[μl]	[mmol]
76,4	8,4	117,8	0,7	4,5	2,7	13,1	150	0,99	400	0,18

#### 4.2.4 Carboxylat-funktionalisierte Copolymere

Die Synthese Carboxylat-funktionalisierter Copolymere erfolgt in Anlehnung an die Herstellung des unfunktionalisierten poly-AAm (vgl. **4.2.2**). AAm und Quervernetzer (MBAAm) werden in deionisiertem Wasser gelöst. Daraufhin wird eine 1 M Stammlösung von Na-Acrylat (AC) (Abbildung 4-4a) oder eine 0,5 M Lösung von Na-Allylmalonat (AM) (Abbildung 4-4b) der Lösung zugegeben. Durch Titration mit 1 M NaOH-Lösung wird der pH-Wert der Stammlösungen auf 7,0 - 7,4 eingestellt. Nach Zugabe des Radikalstarter-Systems TMEDA/APoxS werden die Polymerisationslösungen 2 Minuten gerührt, im Ruhezustand erfolgt innerhalb von 5 Minuten die Gelierung. Alterung und Auslaugung der Gelkörper erfolgen analog der Synthese des poly-AAm. Die Ansatzgrößen der Synthese eines mit Acrylat-Monomeren funktionalisierten Hydrogels (poly-AAm-AC) sind Tabelle 4-4 zu entnehmen.



**Abbildung 4-4:** a) Strukturformel des Na-Acrylat-Monomers, b) Strukturformel des Na-Allylmalonat-Monomers.

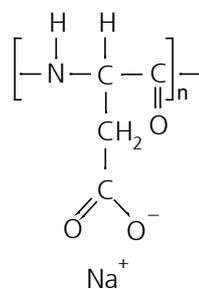
**Tabelle 4-4:** Ansatzgrößen der Herstellung von poly-AAm-AC.

H <sub>2</sub> O	AAm		MBAAm		AC	TMEDA		APoxS	
[ml]	[g]	[mmol]	[g]	[mmol]	[mmol]	[μl]	[mmol]	[μl]	[mmol]
77,2	8,4	117,8	0,7	4,5	13,1	150	0,99	400	0,18

#### 4.2.5 Hydrogele mit Additiven

Poly-L-Aspartat (poly-L-Asp) wird vielfach als Modellsubstanz nicht-kollagener Proteine eingesetzt [Gow98, Fal00]. Um den Einfluß der poly-Aminosäure auf die Mineralisation in verschiedenen Hydrogelmatrixen zu untersuchen, werden Gele mit beigemischem poly-L-Asp (Abbildung 4-5) synthetisiert. Zu diesem Zweck werden den jeweiligen Syntheseansätzen 0,1 g poly-L-Asp, entsprechend einer Konzentration von 0,11 mmol/l ( $M_w = 9600$  g/mol), zugegeben. Die Konzentration des „Additivs“ im Hydrogel-Netzwerk entspricht der von Falini *et al.* eingesetzten Menge [Fal00]. Für poly-AAm ergibt sich ein Monomer zu Protein Verhältnis von 100:1.

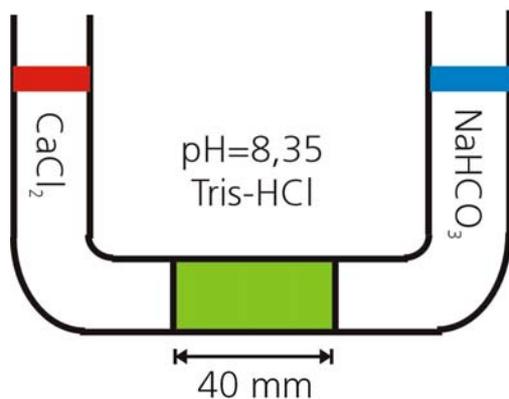
Da es bei Erwärmung zu Denaturierung des poly-L-Asp kommen kann, erfolgt die Zugabe zu einer Gelatinegel-Lösung erst nach 30 Minuten Abkühldauer. Zu diesem Zeitpunkt ist die Lösung bis auf ca. 30°C abgekühlt, wobei sie noch hinreichend niedrigviskos ist um eine homogene Verteilung des Additivs in der Polymerlösung zu gewährleisten. Die Beimischung der poly-Aminosäure zu der Polymerisationslösung des poly-AAm erfolgt unmittelbar vor Zugabe des Starters (APoxS) bei Raumtemperatur.



**Abbildung 4-5:** Strukturformel des Na-Poly-Aspartat.

### 4.3 Versuchsanordnung

Die Mineralisationsversuche von  $\text{CaCO}_3$  in unterschiedlichen Hydrogelmatrixen werden in einer Doppeldiffusionsanordnung durchgeführt. Gelkörper mit einem Durchmesser von 25 mm und einer Länge von etwa 40 mm werden in das horizontale Rohr einer U-förmigen Apparatur eingebracht. Die beiden Schenkel der Doppeldiffusionsanordnung enthalten standardmäßig 150 ml 0,1 M  $\text{CaCl}_2$ - bzw. 0,1 M  $\text{NaHCO}_3$ -Lösungen (Abbildung 4-6). Um den Einfluß des pH-Werts auf die Materialabscheidung einzugrenzen, werden die Mineralisationslösungen mit einem Puffersystem aus 0,05 M Tris-HCl auf einen pH-Wert von 8,35 eingestellt. Nach Beendigung der Mineralisationsversuche werden die Gelkörper aus dem Glasrohr geschoben und sogleich in 5 mm dicke Scheiben geschnitten. Um die anorganischen Mineralisationsprodukte zu charakterisieren, werden diese entweder mit einer Pinzette aus der Gelscheibe herauspräpariert oder durch selektive Lösung des organischen Netzwerks mit einem Oxidationsmittel von dem Hydrogel getrennt. Zu diesem Zweck werden die Gelscheiben für 24 Stunden in NaOCl-Lösung (6 - 14% Cl aktiv) eingelegt. Dabei kommt es zu oxidativer Zersetzung des organischen Netzwerks. Die verbleibenden Mineralisationsprodukte können daraufhin durch Zentrifugieren bzw. Vakuumfiltration gewonnen werden.



**Abbildung 4-6:** Schematische Darstellung der standardmäßig verwendeten Doppeldiffusionsanordnung.

Um die Keimbildung von  $\text{CaCO}_3$  (bzw. die Induktionszeiten) in den jeweiligen Netzwerken zu beschreiben, wird die Doppeldiffusionsanordnung modifiziert. Der Effekt der Gelmatrix auf die Keimbildung wird bei einem längeren Diffusionsweg der Elektrolyte deutlich. Daher werden die Induktionszeiten in Gelkörpern mit einem Durchmesser von 10 mm und einer Länge von 300 mm untersucht. Um die, durch den längeren Diffusionsweg hervorgerufenen, abweichenden Konzentrationsverhältnisse auszugleichen, werden Mineralisationslösungen mit einer Konzentration von 0,5 mol/l eingesetzt.

Während für die Untersuchung der Keimbildung besonders lange Gelkörper zweckmäßig sind, läßt sich ein oberer Grenzwert des Mineralisationsgrads von  $\text{CaCO}_3$  in poly-AAm bei Doppeldiffusion in 5 mm kurzen Gelkörpern bestimmen. Bei diesen Versuchen werden die Mineralisationslösungen nach jeweils einer Woche ausgetauscht.

Zur Durchführung von *in-situ* einkristalldiffraktometrischen Untersuchungen erfolgt die Mineralisation in einer Glaskapillare (Markröhrchen; Hilgenberg, 1,0 mm Außendurchmesser). Die beiden Enden der 10 mm langen Kapillare werden mit Pasteurpipetten verklebt. Zu Beginn

der Mineralisationsversuche werden die vertikal an der Kapillare fixierten Pipetten mit 0,1 M  $\text{CaCl}_2$ - bzw.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung befüllt. Die gesamte Apparatur wird in einem Einkristallröntgendiffraktometer montiert, wobei die mit Gel gefüllte Kapillare im Mittelpunkt des Diffraktometermeßkreises zu justieren ist.

Die Konzentrationsverhältnisse während der Doppeldiffusion ergeben sich aus einer orts aufgelösten Bestimmung der Calciumkonzentration in dem jeweiligen Gelkörper. Die Quantifizierung der Carbonationen in der Porenlösung der Gelkörper ist nicht praktikabel, da die verwendeten Hydrogele im wesentlichen aus Kohlenstoffketten bestehen. Die Calciumanalytik der Gelkörper nach Doppeldiffusion ergibt keine reproduzierbaren Ergebnisse für die unterschiedlichen Gelsysteme, da die Präzipitation von  $\text{CaCO}_3$  zu starken Schwankungen der lokalen Calciumkonzentration führt. Die Verhältnisse der Doppeldiffusion werden daher durch eine Einfachdiffusionsanordnung angenähert. Zu diesem Zweck wird ein 300 mm langes und 25 mm dickes Glasrohr auf einer Seite mit einem Stopfen verschlossen und mit Hydrogel befüllt. Die 40 mm langen Gelkörper werden mit einer 0,1 M Tris-HCl gepufferten  $\text{CaCl}_2$ -Lösung (pH-Wert = 8,35) überschichtet. Nach 2 bzw. 7 Tagen wird die Lösung dekantiert und die Gelkörper werden in 5 mm dicke Scheiben geschnitten. Die Calciumkonzentration der Gelscheiben läßt sich durch Atomemissionsspektroskopie (ICP-AES) bestimmen.

## 4.4 Charakterisierungsmethoden

### 4.4.1 Mikroskopie

Polarisationsmikroskopische Untersuchungen wurden mit einem Leica DMRM Mikroskop durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die aus dem Gel isolierten Mineralisationsprodukte in Epoxidharz eingebettet und 20 bzw. 30  $\mu\text{m}$  dicke, polierte Dünnschliffe angefertigt. Eine Untersuchung der räumlichen Orientierung der optischen Achsen erfolgte mit einem Universaldrehtisch nach Fedorov [Rös91]. Am Mineralogischen Institut der TU Bergakademie Freiberg wurden Dünnschliffe Mangan-dotierter Proben (50 ppm  $\text{Mn}^{2+}$ ) mit einem optischen Heißkathoden-Lumineszenzmikroskop vom Typ HC1-LM bei 14 kV Beschleunigungsspannung und einer Stromdichte von 10  $\mu\text{A}/\text{mm}^2$  untersucht.

Rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahmen wurden mit einem Hitachi S800 im Sekundärelektronenmodus angefertigt (Beschleunigungsspannung: 25 kV). Vor der Untersuchung wurden die Proben 15 Sekunden mit Gold besputtert. Für eine qualitative Elementaranalyse wurde die im Elektronenstrahl angeregte charakteristische Röntgenstrahlung mit einem energiedispersivem Röntgenspektrometer (REM-EDX; Eumex-Detektor, WinEDS 3.06) analysiert. Gefriergetrocknete Proben ( $-20^\circ\text{C}$ ) wurden mit einem analytischen REM (LEO 1450VP) mit kombinierter Peltier-Kühlung im Rückstreuелеktronenmodus untersucht.

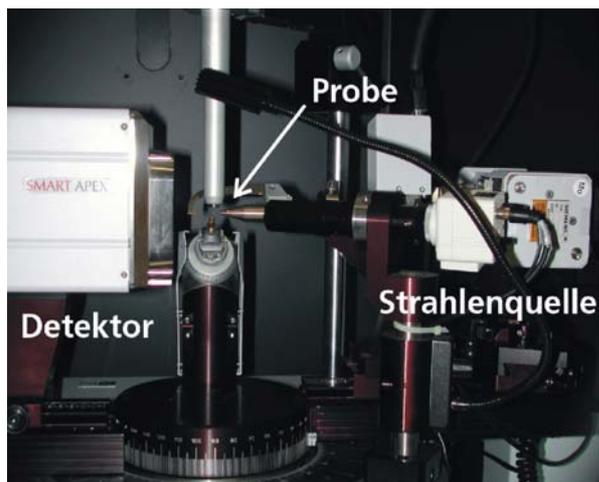
Am Fraunhofer-Institut für Solare Energiesysteme (Freiburg) wurden hochauflösende REM-Aufnahmen an Platin-besputterten Proben durchgeführt.

Transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Untersuchungen wurden an einem Philips CM 12 bei einer Beschleunigungsspannung von 120 kV angefertigt. Es wurden sowohl Mikrotomschnitte (Reichert OmU2) als auch ionengedünnte Proben (Gatan dual ionmill 600) untersucht. Elektronenbeugung an durchstrahlbaren Proben wurde im Feinbereichsbeugungsmodus (selected-area-electron-diffraction, SAED) durchgeführt.

#### 4.4.2 Röntgendiffraktometrie

Zur Bestimmung des kristallinen Phasenbestandes wurden gemörserte Proben mit einem Stoe Stadi P Röntgenpulverdiffraktometer in Bragg-Brentano Geometrie untersucht. Die Cu-K $\alpha$  Strahlung ( $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ) wurde mit einer Beschleunigungsspannung von 40 kV und einem Kathodenstrom von 30 mA erzeugt. Eine quantitative Phasenanalyse erfolgte mit der Rietveld-basierten Software Siroquant 2.0 (Sietronics 1997). Dabei wurden die Beugungsmaxima durch eine Gauß-Funktion angenähert.

Einzelne Pulverproben wurden am Hamburger Synchrotronstrahlungslabor HASYLAB (DESY) mit Synchrotron-Strahlung ( $\lambda = 1,14 \text{ \AA}$ ) untersucht.



Aus dem Gel herauspräparierte Proben wurden auf einen Glasfaden geklebt und mit einem Dreikreis-Einkristalldiffraktometer (Abbildung 4-7), das mit einer CCD-Kamera ausgestattet ist, analysiert (Bruker AXS, SMART APEX-Detektor). Die eingesetzte Molybdän-Strahlung weist eine Wellenlänge von  $0,71 \text{ \AA}$  auf.

**Abbildung 4-7:** Photo der Versuchsanordnung für die Röntgen-Einkristalldiffraktometrie.

#### 4.4.3 Thermoanalyse

Die thermogravimetrische Bestimmung der Massenabnahme (TG) sowie die Änderung des Wärmeflusses während des Aufheizens (Differenzielle Thermoanalyse, DTA) wurden an einer TAG 24 Meßstation der Firma Setaram durchgeführt. Die Messungen erfolgten mit einer Heizrate von  $10 \text{ K min}^{-1}$  unter synthetischer Luft. Die Proben wurden vor der Messung in einem Achatmörser zerkleinert und anschließend 24 Stunden bei  $110^\circ\text{C}$  getrocknet. Bis zur Durchführung der Messung wurden die Proben in einem Exsikkator gelagert.

#### 4.4.4 Infrarotspektroskopie

Infrarotspektroskopische Untersuchungen (IR) getrockneter Gelproben wurden mit einem Nicolet FT-IR 760 Fouriertransform-Infrarotspektrometer durchgeführt. Die festen Proben wurden mit

Kaliumbromid verrieben und als Preßlinge untersucht. Die Preßlinge enthielten 5 Gew.-% Xerogel und waren ca. 700 µm dick.

#### 4.4.5 Elementaranalyse

Die Schwefelkonzentration getrockneter Gelproben wurden durch Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA, Siemens SRS 3000) bestimmt. Zu diesem Zweck wurden die Hydrogel-Scheiben 48 Stunden bei 110°C getrocknet und mit einem Achatmörser zerkleinert. Die pulverisierten Proben wurden ohne weitere Zusätze analysiert.

Um den Calciumgehalt der Hydrogelkörper zu bestimmen, wurden die organischen Bestandteile der Proben mit NaOCl-Lösung zersetzt. Überschüssiges NaOCl wurde durch Zugabe von Ascorbinsäure reduziert. In der basischen Lösung kann es zu Präzipitation von  $\text{CaCO}_3$  oder  $\text{Ca(OH)}_2$  kommen. Die Feststoffe wurden durch Ansäuern der Proben mit konzentrierter HCl (32%) in Lösung gebracht. Die Calciumanalytik der wäßrigen Proben wurde mit einem Atomemissionspektrometer durchgeführt, die Emission wird dabei durch ein induktiv gekoppeltes Plasma angeregt (ICP-AES, Spektrum).

#### 4.4.6 Bildanalyse

Die Porosität der Mineralisationsprodukte wurde mit dem Bildanalysesystem Image C (Version 2.51a, Imtronic GmbH) ermittelt. Zu diesem Zweck wurden digitalisierte REM-Aufnahmen von Anschliffen bearbeitet. Die verwendete Software kann Probenbereiche unterschiedlicher Grauwerte durch Bildbinarisierung voneinander trennen.

Der bildanalytisch ermittelte Kreisdurchmesser der Mineralisationsprodukte wird durch den Äquivalentdurchmesser eines Kreises mit der gleichen Fläche, entsprechend dem gemessenen Objekt, wiedergegeben.

#### 4.4.7 Quellung

Für die Untersuchung der Quellungseigenschaften der Hydrogele, wurden Gelkörper mit einer Masse von 10 g ( $m_0$ ) in 250 ml deionisiertes Wasser eingelegt. Nach vier Tagen wurden die Proben entnommen und anhaftende Wassertropfen mit Löschpapier entfernt. Unmittelbar danach wurde die Masse der gequollenen Gelkörper ( $m_q$ ) bestimmt. Aus dem Massenquotienten  $m_q / m_0$  errechnet sich das Massenquellungsverhältnis ( $Q_w$ ) [Not90].

## 5. Hydrogel-Charakterisierung

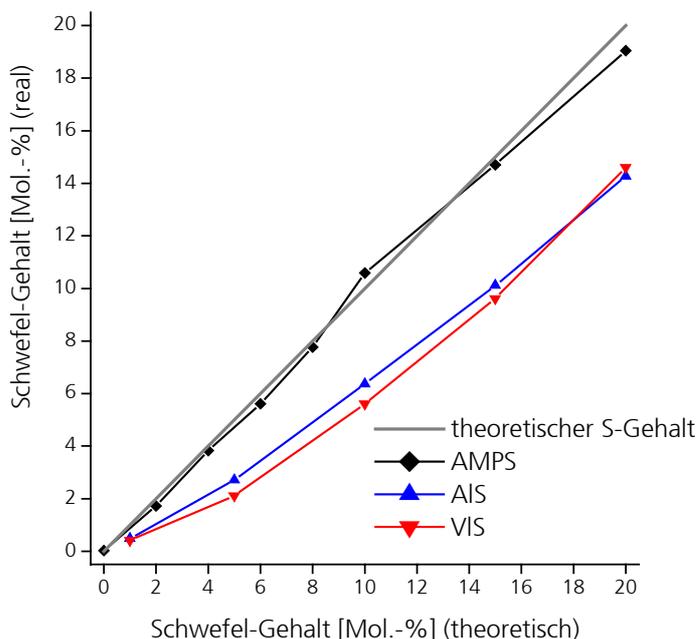
Um den Effekt polarer funktioneller Gruppen auf die Materialabscheidung in Hydrogelmatrices zu bewerten, soll die Mineralisation in Sulfonat- bzw. Carboxylat-funktionalisierten Netzwerken untersucht werden. Voraussetzung der Copolymerisation ist die kovalente Bindung der funktionellen Monomere in der organischen Matrix.

### 5.1 Sulfonat-funktionalisierte Copolymere

#### 5.1.1 Funktionelle Monomere

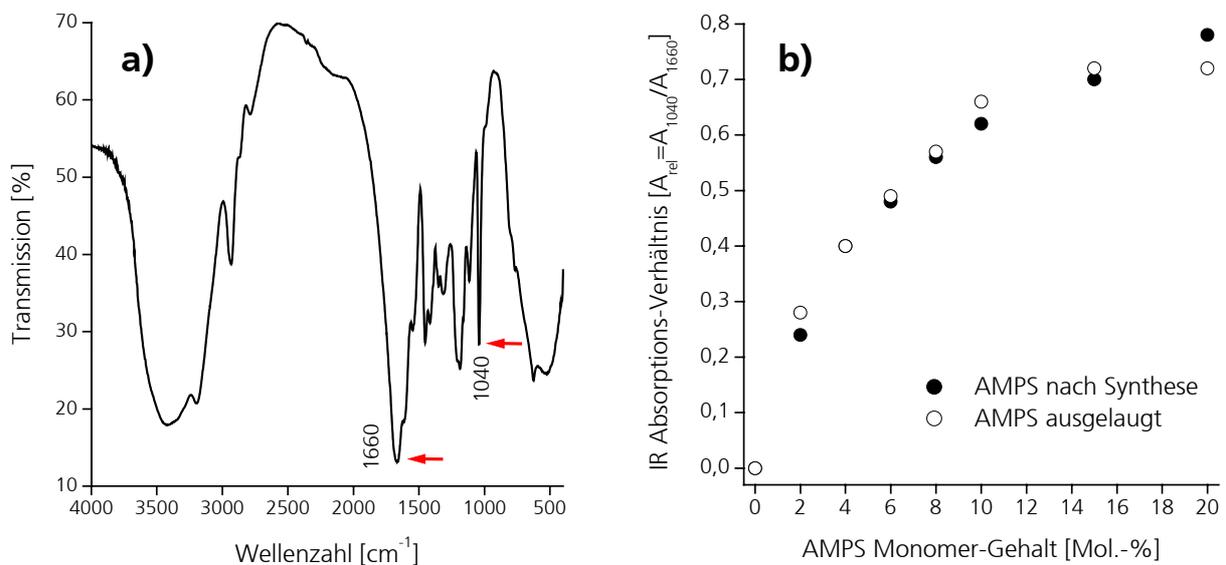
Drei verschiedene funktionelle Monomere wurden für die Synthese der Sulfonat-funktionalisierten Copolymere eingesetzt: Na-Vinylsulfonat (VIS), Na-Allylsulfonat (AIS) und Na-2-Acrylamido-2-methyl-1-propansulfonat (AMPS). Die Effizienz der Copolymerisation von Acrylamid und Sulfonat-haltigen Monomeren wurde durch Auslaugung von Gelkörpern mit unterschiedlichem Gehalt funktioneller Monomere in deionisiertem Wasser untersucht. Es ist zu erwarten, daß Monomere, die nicht Bestandteil des Copolymer-Netzwerks sind, in den Überstand diffundieren [Sol02].

In Abbildung 5-1 ist der theoretische Schwefelgehalt (gemäß dem Syntheseansatz) der unterschiedlichen Copolymere dem Gehalt in ausgelaugten Proben gegenübergestellt. Die Konzentrationen weichen in den ausgelaugten Copolymeren auf VIS- und AIS-Basis deutlich von den theoretischen Werten ab. Der Gehalt der 5 Mol-% Copolymere ist nach Auslaugung nahezu halbiert. Bei höheren Anteilen Sulfonat-haltiger Monomere ist die Diskrepanz zwischen realen und theoretischen Werten weniger ausgeprägt. Im Gegensatz zu VIS- und AIS-haltigen Copolymeren entspricht der Schwefelgehalt der poly-AAm-AMPS-Gelkörper nach Auslaugung in deionisiertem Wasser den theoretischen Werten.



**Abbildung 5-1:** Schwefelgehalt der poly-AAm-VIS-, poly-AAm-AIS- und poly-AAm-AMPS-Copolymere. Der Schwefelgehalt der ausgelaugten poly-AAm-AMPS-Gelkörper entspricht dem theoretischen Gehalt.

Um die Ergebnisse der Elementaranalyse zu verifizieren, wurden Copolymere mit unterschiedlichem AMPS-Gehalt infrarotspektroskopisch untersucht. Da das Verhältnis der S=O Absorptionsbande ( $1040\text{ cm}^{-1}$ ) und der C=O Schwingung ( $1660\text{ cm}^{-1}$ ) charakteristisch für den AMPS-Gehalt in einem Copolymer ist [Dur00], ist es möglich, die Sulfonatgruppen in dem Netzwerk zu quantifizieren. In Abbildung 5-2a ist ein typisches IR-Spektrum eines poly-AAm-AMPS-Copolymers mit 10 Mol-% AMPS in dem Copolymernetzwerk dargestellt. Bei  $1040\text{ cm}^{-1}$  ist die S=O Bande deutlich zu erkennen, Absorption bei  $1660\text{ cm}^{-1}$  entspricht der C=O Schwingung. Eine breite Bande in dem Bereich um  $3450\text{ cm}^{-1}$  geht auf adsorptiv gebundenes Wasser des hygroskopischen Kaliumbromids zurück. Um den AMPS-Gehalt der Copolymere zu bestimmen, wurden die Werte der für AMPS charakteristischen S=O Schwingung mit den Intensitäten der C=O Bande normalisiert. In Abbildung 5-2b ist das Verhältnis  $A_{\text{rel}} = A_{1040} / A_{1660}$  der Copolymere gemäß dem Syntheseansatz sowie das Verhältnis der entsprechenden ausgelaugten Proben aufgetragen. Das Absorptionsverhältnis der ausgelaugten Proben weicht lediglich geringfügig von den Werten gemäß dem Syntheseansatz ab.



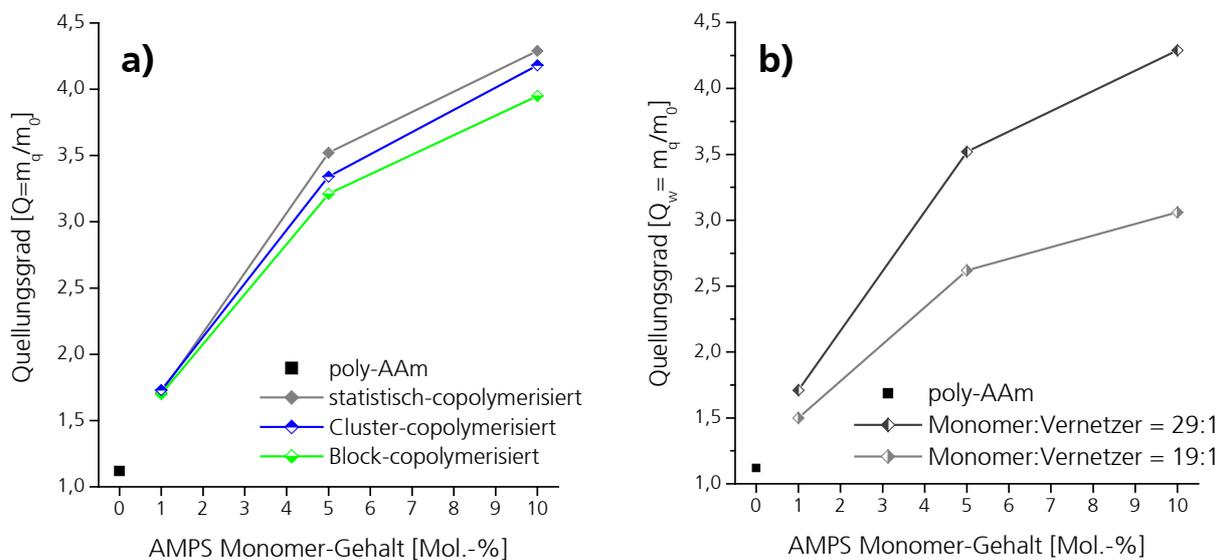
**Abbildung 5-2:** a) typisches IR-Spektrum eines poly-AAm-AMPS-Copolymers mit 10 Mol-% Sulfonat-haltigem Monomer, b) IR Absorptionsverhältnis  $A_{\text{rel}} = A_{1040} / A_{1660}$  von Proben gemäß dem Syntheseansatz und entsprechenden ausgelaugten Proben.

Der Vergleich der theoretischen Schwefelkonzentrationen mit den Werten der ausgelaugten Gelkörper ermöglicht Rückschlüsse auf die Effizienz der Copolymerisation. Während Acrylamid- und AMPS-Monomere effektiv copolymerisieren, sind die VIS- und AIS-Monomere nicht quantitativ in dem Hydrogel-Netzwerk gebunden. Die unzureichende Copolymerisation des Acrylamids mit VIS und AIS ist auf die abweichenden Reaktivitäten der Monomere zurückzuführen [Kej92]. Schwingungsspektroskopisch konnten die Ergebnisse der Elementaranalyse bestätigt werden: Demnach sind AMPS-Monomere geeignete Edukte für die Synthese Sulfonat-funktionalisierter Copolymere.

### 5.1.2 Netzwerktopographie

Um den Effekt der räumlichen Anordnung funktioneller Gruppen in einem Hydrogel-Netzwerk (*Netzwerktopographie*) auf die Mineralisation von  $\text{CaCO}_3$  zu untersuchen, wurde die Synthese der poly-AAm-AMPS-Copolymere modifiziert (vgl. **4.2.3**): Wegen der vergleichbaren Reaktivitäten von AAm und AMPS sind die Sulfonatgruppen bei „statistischer“ Copolymerisation regellos in dem Netzwerk verteilt [Dur00]. Infolge selektiver Quervernetzung der AMPS-Monomere vor Polymerisation des gesamten Netzwerks, sind in „Block“- bzw. „Cluster“-copolymerisierten Matrices Bereiche mit höherer Dichte funktioneller Gruppen zu erwarten.

Um die unterschiedlichen Netzwerktopographien zu charakterisieren, wurde die Quellung der jeweiligen Copolymere ermittelt. In Abbildung 5-3a sind die Quellungsgrade als Funktion des Gehalts funktioneller Gruppen aufgetragen. Ein „statistisch“ copolymerisiertes poly-AAm-AMPS-Gel weist die größten Werte auf. Die Quellung eines „Block“-copolymerisierten Netzwerks ist am geringsten ausgeprägt, „Cluster“-Copolymerisation führt zu mittleren Werten. Der Effekt des Quervernetzer-Gehalts auf die Quellung wird durch Vergleich von „statistisch“ copolymerisierten Hydrogelen mit unterschiedlichem Gesamtmonomer/Quervernetzer-Verhältnis deutlich (Abbildung 5-3b): Copolymere mit einem Verhältnis von 19:1 quellen deutlich geringer als die entsprechenden Gele mit geringerem Quervernetzer-Gehalt (29:1).



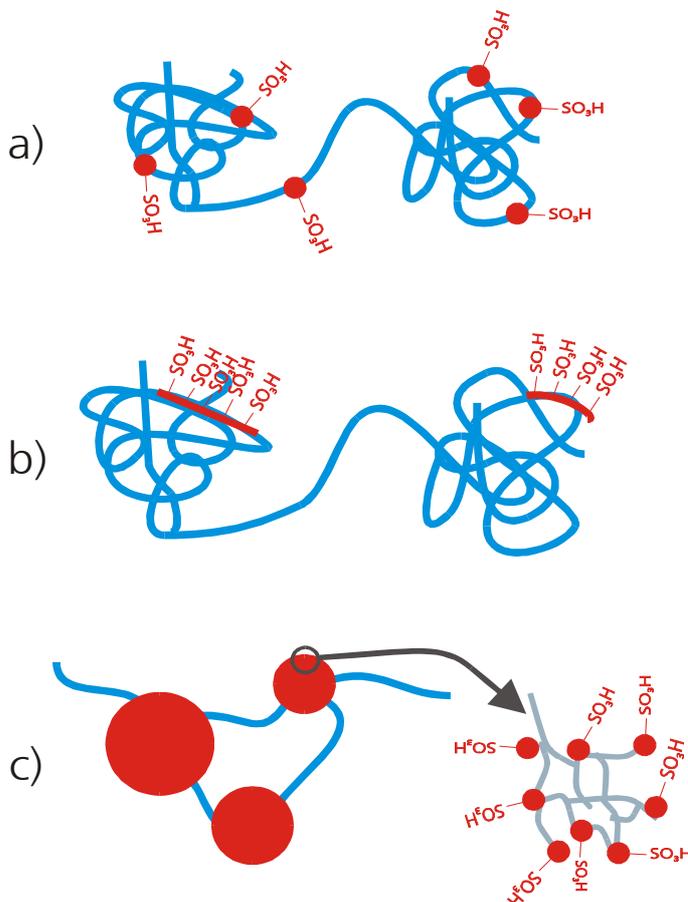
**Abbildung 5-3:** a) Quellungsgrad von poly-AAm-AMPS-Copolymeren mit unterschiedlicher Netzwerktopographie, b) Quellungsgrad von Copolymeren mit unterschiedlichem Gesamtmonomer/Quervernetzer-Verhältnis.

Nach Flory (1953) ergibt sich das Gleichgewicht der Quellung von Hydrogelen maßgeblich aus dem osmotischen Druck infolge des Potentialausgleichs polarer Gruppen, die von Hydrathüllen umgeben werden, und der elastischen Rückstellkraft des Netzwerks [Flo53]. Die lokale Akkumulation der polaren Funktionalitäten in „Block“- und „Cluster“-copolymerisierten Netzwerken führt zu sterischer Beeinträchtigung der Hydrathüllen, so daß die durch den osmotischen Druck hervorgerufene Kraft geringer ist als bei „statistischer“ Verteilung der polaren Gruppen. Der Vergleich der Quellung von Copolymeren mit unterschiedlichem

Quervernetzer-Gehalt (Abbildung 5-3b) zeigt, daß die elastische Rückstellkraft von dem Gesamtmonomer/Quervernetzer-Verhältnis abhängt. Daher ist bei der Auswertung der Quellungsversuche, neben der sterischen Behinderung der Hydrathüllen um lokal akkumulierte funktionelle Gruppen, die Quervernetzer-Verteilung in dem Netzwerk zu berücksichtigen.

Aus Gründen der Vergleichbarkeit ist die Gesamtquervernetzer-Konzentration der unterschiedlichen Synthesansätze einheitlich (vgl. **4.2.3**). Die Zugabe des Radikalstarters zu der Vorpolymerisationslösung eines „Cluster“-copolymerisierten Hydrogels führt zu lokaler Vernetzung der AMPS-Monomere. Wegen dieser inhomogenen Verteilung des Quervernetzers weist der makroskopische Gelkörper eine vergleichsweise größere Elastizität auf. Dennoch ist der Quellungsgrad der „Cluster“-copolymerisierten Matrix geringer als bei „statistischer“ Verteilung der funktionellen Gruppen (Abbildung 5-3a). In einer „Block“-copolymerisierten Matrix ist der Quervernetzer homogen verteilt, so daß die elastische Rückstellkraft den Verhältnissen des „statistisch“ copolymerisierten Netzwerks entspricht. Daher ist die vergleichsweise geringe Quellung lediglich auf den geringeren osmotischen Druck zurückzuführen [Gra03b].

In Abbildung 5-4 sind die drei unterschiedlichen Netzwerktopographien der poly-AAm-AMPS-Copolymere schematisch dargestellt. Während die Sulfonatgruppen in dem „statistisch“-copolymerisierten Netzwerk regellos verteilt sind, kennzeichnen lineare AMPS-Segmente ein „Block“-Copolymer und quervernetzte Bereiche mit hoher Dichte funktioneller Gruppen ein „Cluster“-Copolymer.

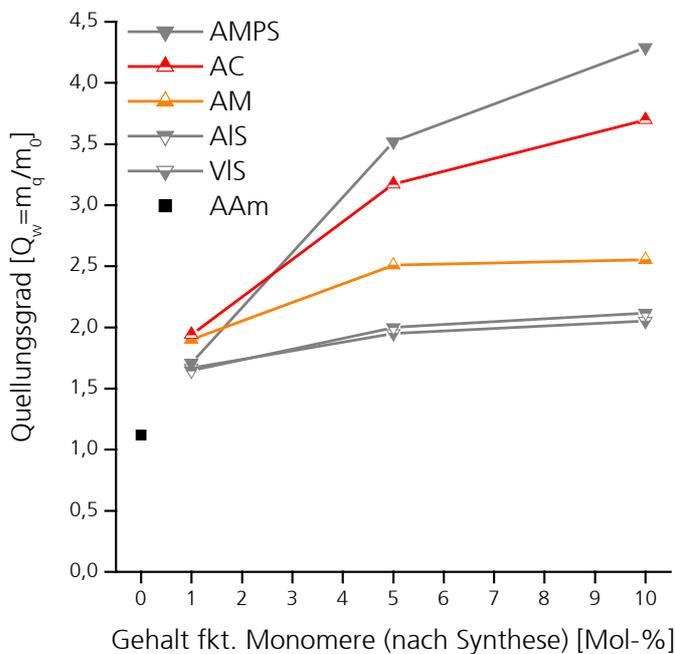


**Abbildung 5-4:** Schematische Darstellung der räumlichen Verteilung funktioneller Sulfonatgruppen in dem Copolymer-Netzwerk: **a)** „statistisches“ Copolymer, **b)** „Block“-Copolymer, **c)** „Cluster“-Copolymer.

## 5.2 Carboxylat-funktionalisierte Copolymere

Die Wirkungsweise von Carboxylatgruppen auf die Materialabscheidung in organischen Hydrogelmatrices soll durch Mineralisationsversuche in Carboxylat-funktionalisierten Copolymeren herausgestellt werden. Bei Biomineralisationsprozessen ist die definierte räumliche Anordnung polarer funktioneller Gruppen von wesentlicher Bedeutung für die Materialabscheidung [Hey00]. Daher wurde neben Na-Acrylat (AC) auch Na-Allylmalonat (AM), das zwei Carboxylatgruppen enthält, eingesetzt.

Die Effizienz der Copolymerisation wird durch Quellungsversuche von Copolymeren mit unterschiedlichem Gehalt an funktionellen Monomeren charakterisiert. In Abbildung 5-5 ist der Quellungsgrad der mit Acrylat (poly-AAm-AC) bzw. der mit Allylmalonat (poly-AAm-AM) copolymerisierten Matrices aufgetragen. Den Werten der Carboxylat-funktionalisierten Hydrogele sind die Quellungsgrade des poly-AAm-VIS, poly-AAm-AIS und poly-AAm-AMPS („statistisch“ copolymerisiert) gegenübergestellt. Mit zunehmendem Gehalt funktioneller Monomere nehmen die Werte der Carboxylat-funktionalisierten sowie der Sulfonat-funktionalisierten Copolymere zu. Während jedoch der Quellungsgrad des poly-AAm-VIS und des poly-AAm-AIS nur wenig zunimmt, weist die Kurve des poly-AAm-AMPS einen steileren Verlauf auf. Die Werte der Carboxylat-funktionalisierten Copolymere nehmen eine Zwischenstellung ein. Der Quellungsgrad des poly-AAm-AM ist jedoch deutlich niedriger als die entsprechenden Werte des poly-AAm-AC. Die Zunahme des Quellungsgrads als Funktion des Gehalts funktioneller Monomere entspricht dem Verlauf der Kurven des poly-AAm-VIS bzw. poly-AAm-AIS.



**Abbildung 5-5:** Quellungsgrad von Carboxylat- und Sulfonat-funktionalisierten Hydrogelen in Abhängigkeit von dem Gehalt funktioneller Monomere des Syntheseansatzes.

Die unterschiedliche Quellung der untersuchten Copolymere ist auf Ausschwemmung nicht-kovalent vernetzter Bestandteile der Hydrogelmatrix zurückzuführen. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Schwefelanalyse Sulfonat-funktionalisierter Netzwerke (vgl. **5.1.1**) weisen poly-AAm-VIS und poly-AAm-AIS Hydrogele deutlich geringere Quellungsgrade als poly-AAm-AMPS auf. Analog zu den Verhältnissen des poly-AAm-VIS und poly-AAm-AIS ist der Quellungsgrad eines 10 Mol-% poly-AAm-AM nur unwesentlich größer als der Wert des 5 Mol-% Copolymers.

Obwohl der Gehalt funktioneller Carboxylatgruppen in dem Syntheseansatz des poly-AAm-AM doppelt so hoch ist wie der entsprechende Gehalt des poly-AAm-AC (zwei Carboxylatgruppen in AM), quellen Acrylat-funktionalisierte Copolymere wesentlich stärker als Allylmalonat-funktionalisierte Gele. Offensichtlich sind die Allylmalonat-Monomere nur unzureichend in das Hydrogel-Netzwerk eingebaut. Wahrscheinlich ist dies darauf zurückzuführen, daß bei einer Allylgruppe auch andere Radikalreaktionen außer der Polymerisation möglich sind: Die Bildung eines Allylradikals ist gegenüber dem Angriff an der Doppelbindung energetisch begünstigt [Mar85]. Es kommt daher zu unzureichender Copolymerisation der Acrylamid-Monomere mit den Allylmalonat-Monomeren. Demgegenüber weisen die Werte des poly-AAm-AC auf eine effektive Copolymerisation hin. Übereinstimmend mit den Untersuchungen der Reaktivitäten von Acrylamid- und Acrylat-Monomeren ist von einer quantitativen Copolymerisation auszugehen [Cab71]. Im Gegensatz zu poly-AAm-AM läßt sich der Gehalt funktioneller Monomere einstellen, so daß sich Acrylat-funktionalisierte Netzwerke als Kristallisationsmedium in Doppeldiffusionsversuchen eignen.

### 5.3 Zusammenfassung

Aus Vergleich des theoretischen Schwefelgehalts mit der Konzentration in ausgelaugten Proben sowie aus schwingungsspektroskopischen Untersuchungen ergibt sich, daß AMPS-Monomere geeignete Edukte für die Synthese Sulfonat-funktionalisierter Copolymere sind. Untersuchungen des Quellungsgrads von poly-AAm-AMPS-Copolymeren mit unterschiedlicher räumlicher Anordnung funktioneller Gruppen belegen eine unterschiedliche Netzwerktopographie der „statistisch“, „Block“- bzw. „Cluster“-copolymerisierten Matrices. Die vergleichsweise geringe Quellung eines poly-AAm-AM Copolymers weist auf eine unzureichende Bindung der Allylmalonat-Monomere in dem Netzwerk hin. Demgegenüber kann durch Copolymerisation von Acrylamid- und Acrylat-Monomeren ein Carboxylat-funktionalisiertes Copolymer synthetisiert werden.

## 6. Mineralisation in Hydrogelmatrices

Mineralisationsversuche in „natürlichem“ Gelatinegel ermöglichen Aussagen über die Wirkungsweise einer naturnahen Matrix auf die Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  (6.1). Demgegenüber stellt ein kovalent vernetztes poly-Acrylamid-Hydrogel ein „künstliches“ Referenzsystem der Mineralisation in Gelnetzwerken dar (6.2). Um den Effekt ionischer funktioneller Gruppen auf die Materialabscheidung zu bewerten, werden Sulfonat- (6.3) und Carboxylat-funktionalisierte (6.4) Matrices eingesetzt. Der Einfluß nicht-kollagener Proteine auf die biomimetische Mineralisation ergibt sich aus Versuchen mit Hydrogelen, denen poly-L-Aspartat beigemischt ist (6.5). Systemübergreifende Untersuchungen der unterschiedlichen Gelsysteme schließen dieses Kapitel ab (6.6).

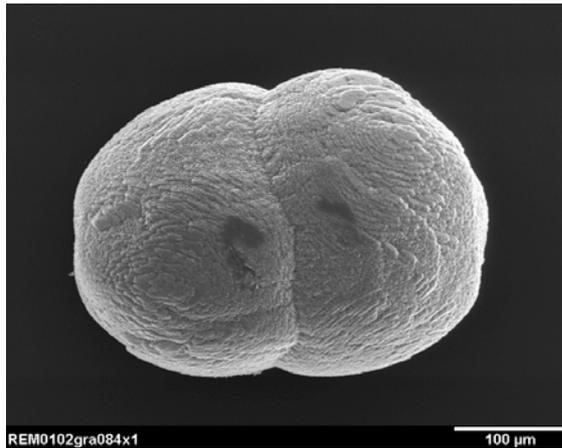
### 6.1 Mineralisation in Gelatinegel

Die Aminosäuren-Zusammensetzung der Gelatine entspricht der des natürlichen Kollagens [Str96]. Bei der Mineralisation menschlicher Knochen ist die Wechselwirkung des Hydroxylapatits mit der organischen Kollagen-Matrix von grundsätzlicher Bedeutung [Wei86, Wei99]. Die räumliche Organisation des Proteins sowie die polaren funktionellen Gruppen (Asparagin-, Glutaminsäure) in dem Netzwerk ermöglichen die Entstehung eines Biokomposits mit herausragenden Eigenschaften. In Anlehnung an die von Kniep *et al.* gewählten Bedingungen zur Mineralisation von Fluorapatit wurde daher Gelatinegel als natürliches Referenzsystem der biomimetischen Materialsynthese in Doppeldiffusionsversuchen eingesetzt [Kni96].

#### 6.1.1 Mineralisationsprodukte

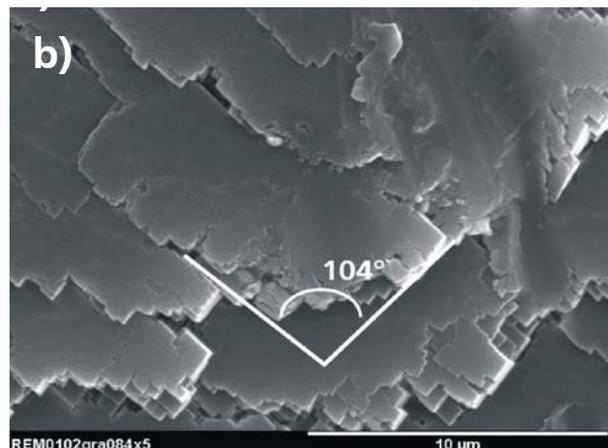
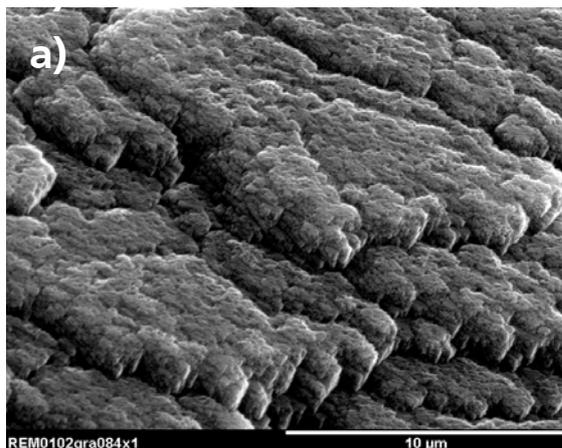
In Gelatinegel sind nach ca. 60 Stunden erste Mineralisationsprodukte auf der  $\text{Ca}^{2+}$ -reichen Seite der Versuchsanordnung mit bloßem Auge zu erkennen. Innerhalb von 7 Tagen entstehen im gesamten Gelvolumen Partikel mit bis zu 400  $\mu\text{m}$  Durchmesser. Röntgenpulverdiffraktometrisch (XRD) wurde als einzige Phase Calcit nachgewiesen.

Eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (REM) eines typischen Mineralisationsprodukts aus der Mitte des Gelkörpers ist in Abbildung 6.1-1 dargestellt. Die Produkte weisen eine hantelähnliche Gestalt auf: Durch eine Einschnürung in der Mitte werden diese in zwei Hälften unterteilt, die beiden Teile erscheinen um  $60^\circ$  gegeneinander verdreht. Abgestufte, terrassenartige Kristallflächen begrenzen die Mineralisationsprodukte, die beiden Hälften setzen sich aus jeweils drei gleichartigen Sätzen derartiger Terrassenflächen zusammen [Gra02].



**Abbildung 6.1-1:** REM-Aufnahme eines typischen  $\text{CaCO}_3$ -Mineralisationsprodukts aus Gelatinegel nach 7 Tagen Versuchsdauer.

Die Gestalt der Mineralisationsprodukte ist jedoch von dem Ort der Kristallisation innerhalb des Gelkörpers abhängig. Während die Partikel auf der  $\text{Ca}^{2+}$ -reichen Seite unebene Kristallflächen aufweisen, sind die Produkte auf der  $\text{HCO}_3^-$ -reichen Seite durch glatte Kristallflächen und scharfe Kanten gekennzeichnet (Abbildung 6.1-2). Die Winkel zwischen den Kanten (bzw. die korrespondierenden Normalenwinkel) entsprechen mit Werten von  $104^\circ$  und  $76^\circ$  den Flächennormalenwinkeln des Calcit-Spaltrhomboeders [Ree83]. Demnach werden die Terrassenflächen mit den Millerindices der  $\{10\bar{1}4\}$  Form beschrieben.



**Abbildung 6.1-2:** **a)** REM-Aufnahmen der Oberfläche hantelähnlicher Mineralisationsprodukte aus einem Bereich des Gelkörpers nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung, **b)** aus einem Bereich nahe der  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung.

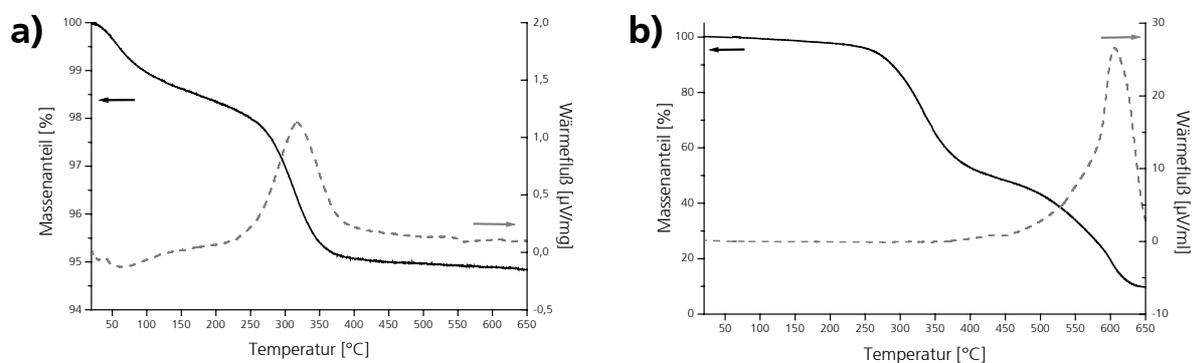
Die beobachtete Morphologie der Mineralisationsprodukte ist untypisch für die Kristallisation von Calcit in wässrigen Medien, in Silicagelen [McC74] sowie bei der organomineralogischen Präzipitation von  $\text{CaCO}_3$  in Biofilmen entstehen jedoch vergleichbare Produkte [Buc91]. Offenbar ist eine hantelähnliche Morphologie nicht ungewöhnlich für gelartige Wachstumsmilieus, die Erscheinungsform ist allerdings nicht auf die Kristallisation in Gelatinegel beschränkt. Eine spezifische molekular-chemische Wechselwirkung ist nicht nachzuweisen: Bei der Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  in Gegenwart organischer Additive wird die Entstehung unebener Wachstumsstrukturen auf die Wirkungsweise funktioneller Gruppen der Polyelektrolyte zurückgeführt [Smi00]. Da in Gelatinegel sowohl glatte als auch unebene Kristallflächen beobachtet werden, kann ein derartiger Effekt des Gelatinegels ausgeschlossen werden.

Doppeldiffusionsversuche zur Abscheidung von  $\text{CaCO}_3$  in Silicagelen [Fer96] ergeben ortsabhängige Unterschiede der Kristallmorphologie, was durch die jeweiligen Verhältnisse des chemischen Milieus erklärt wird. Neben der Übersättigung, die wesentlich von dem pH-Wert der Porenlösung abhängt [Pri89], beeinflussen Konzentrationsveränderungen im Verlauf der Doppeldiffusion die Kristallisation. Derartige Effekte wurden bei der Mineralisation in Gelatinegel durch Pufferung der Mineralisationslösungen sowie der Porenlösung eingeschränkt. Dennoch stellen sich im Verlauf der Doppeldiffusion lokale chemische Bedingungen ein, die zu ortsabhängiger Morphologie der Mineralisationsprodukte führen. Offenbar wird bei der Mineralisation von  $\text{CaCO}_3$  in Gelatinegel der morphogenetische Effekt der organischen Matrix von den jeweiligen Konzentrationsverhältnissen überlagert.

### 6.1.2 Kompositcharakter

Im Verlauf der Kristallisation in Gelen können Bestandteile des Wachstumsmediums in die Kristallstruktur inkorporiert werden [Hen88]. Um zu einem allgemeinen Verständnis der Wirkungsweise der Gelatinegel-Matrix auf die biomimetische Mineralisation beizutragen, soll daher der Kompositcharakter der Mineralisationsprodukte untersucht werden.

Einige Partikel wurden aus dem Gelatinegel herauspräpariert und thermogravimetrisch analysiert. In Abbildung 6.1-3a ist die Massenabnahme und die Änderung des Wärmeflusses während des Aufheizens einer pulverisierten Probe dargestellt. Die Massenabnahme bis zu einer Temperatur von  $150^\circ\text{C}$  ist auf die Freisetzung adsorptiv gebundener Luftfeuchte zurückzuführen. Im Temperaturintervall von  $250 - 400^\circ\text{C}$  kommt es zu einem exothermen Wärmefluß und einer Massenabnahme der untersuchten Probe. Die Thermogravimetriekurve einer getrockneten (48 Stunden,  $110^\circ\text{C}$ ) Gelatinegel-Referenzprobe weist in dem gleichen Temperaturbereich einen Massenverlust auf (Abbildung 6.1-3b). Allerdings ist ein deutlich exothermer Wärmefluß, verbunden mit einer weiteren Massenabnahme, erst bei Temperaturen oberhalb  $500^\circ\text{C}$  zu beobachten.



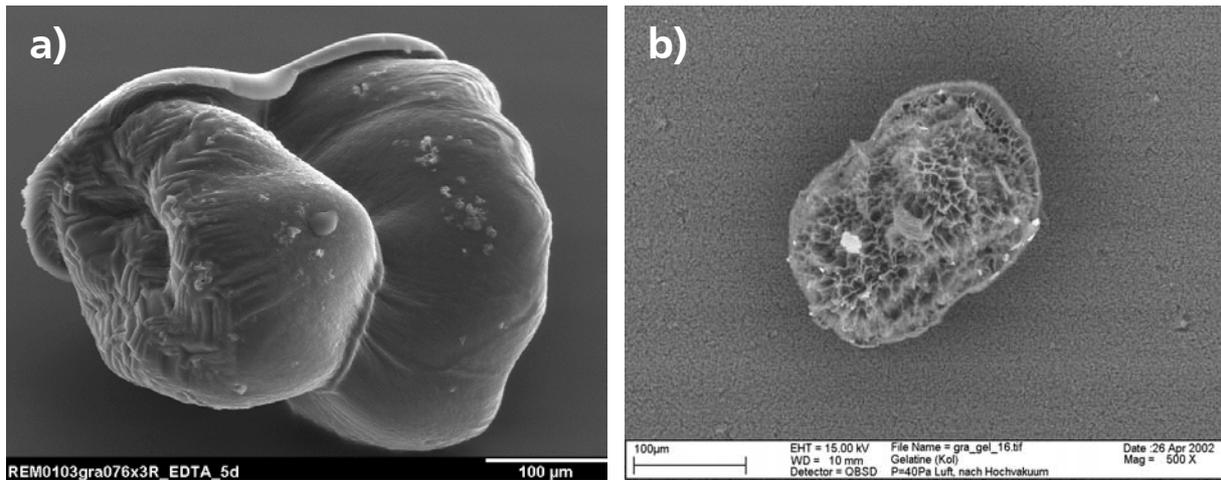
**Abbildung 6.1-3:** a) Thermogravimetrie und differentielle Thermoanalyse pulverisierter Mineralisationsprodukte aus Gelatinegel, b) analoge Untersuchung eines reinen Gelatine-Xerogels.

Bei Vergleich der Thermogravimetriekurven wird deutlich, daß die Massenabnahme der Kompositpartikel auf oxidative Zersetzung inkorporierten Gelatinegels zurückzuführen ist. Allerdings verläuft die Thermolyse des reinen Gelatinegels, im Gegensatz zu der Zersetzung des inkorporierten Gels, in zwei Stufen. Die exotherme Zersetzungsreaktion der kompakten Referenzprobe ist zu höheren Temperaturen verschoben. Vergleichsproben des reinen Gelatinegels, die in einem Muffelofen auf 450°C geheizt wurden, zeigen eine schwarze Färbung. Offenbar zersetzt sich die organische Substanz zunächst unter Bildung von elementarem Kohlenstoff. Erst bei Temperaturen oberhalb 500°C kommt es zu vollständiger exothermer Oxidation. Die inkorporierten, fein verteilten Gelbestandteile der pulverisierten Kompositpartikel werden demgegenüber bereits bei niedrigeren Temperaturen vollständig oxidiert. Wahrscheinlich wird der Verlauf der thermischen Zersetzungsreaktion maßgeblich von der relativen Oberfläche der organischen Substanz bestimmt.

Aus den thermogravimetrischen Untersuchungen geht hervor, daß die Mineralisationsprodukte 3,9 Gew.-% organisches Material enthalten. Der korrespondierende Volumenanteil errechnet sich aus der theoretischen Dichte von Calcit ( $2,72 \text{ g/cm}^3$  [Dee92]) und der durch He-Pyknometrie bestimmten Dichte reiner Gelatine ( $1,35 \text{ g/cm}^3$ ). Demnach sind während der Kristallisation in dem Gelatinegel etwa 8 Vol.-% organische Matrix in die Kompositpartikel eingewachsen.

Ausgehend von dem Feststoffgehalt der Gelatinegel-Matrix (10 Gew.-%) läßt sich der theoretisch maximale Gehalt organischer Substanz in einem Kompositpartikel bei volumenkonformer Verwachsung errechnen. Mit einem Wert von 3,9 Gew.-% weicht der Organik-Gehalt der hantelähnlichen Mineralisationsprodukte nur geringfügig von dem theoretischen Maximalwert (3,7 Gew.-%) ab. Demnach entspricht der eingewachsene Gelatinegel-Gehalt dem Wert in einem vergleichbaren (nicht mineralisierten) Gelvolumen.

Um die Verwachsung der organischen Matrix mit der Kristallphase eingehender zu untersuchen, wurden einige Partikel in 0,25 M EDTA-Lösung ( $\text{pH} = 7$ ) eingebracht. Bereits nach 72 stündiger Exposition ist das  $\text{CaCO}_3$ , infolge Komplexbildung von  $\text{Ca}^{2+}$ , teilweise gelöst. Mit energiedispersiver Röntgenspektroskopie (REM-EDX) konnte an der Oberfläche der abgelösten Kompositpartikel Calcium nicht mehr nachgewiesen werden. Die Gestalt der luftgetrockneten Proben ähnelt den ursprünglichen Mineralisationsprodukten (Abbildung 6.1-4a). Während nach 28 Tagen Lagerung in EDTA-Lösung ein rein anorganischer Calcit-Referenzkristall vergleichbarer Größe (Islandspat) vollständig gelöst ist, ist die Ausgangsgestalt der (feuchten) Kompositpartikel noch erhalten. Beim Trocknen an Luft schrumpfen diese Gelpartikel deutlich. Durch Gefriertrocknung ( $-20^\circ\text{C}$ , 40 Pa) ist es jedoch möglich, die Gestalt zu bewahren (Abbildung 6.1-4b). Infolge des Kristallisationsdrucks entstehender Eiskristalle bilden sich wabenartige Strukturen, die sich trichterförmig in Richtung des Partikelinneren verzweigen. Die ursprüngliche Morphologie der hantelähnlichen Mineralisationsprodukte ist dennoch zu erkennen: Das nach selektiver Lösung verbliebene Gelnetzwerk stellt eine Negativform des hybriden Materials dar.



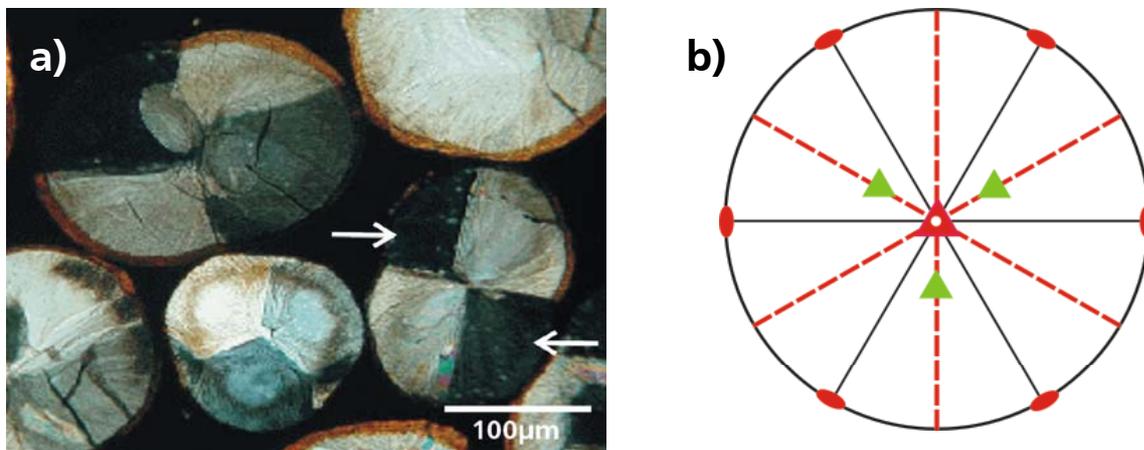
**Abbildung 6.1-4:** a) REM-Aufnahme eines Mineralisationsprodukts nach 72 Stunden Lagerung in EDTA-Lösung, b) REM-Aufnahme des gefriergetrockneten Rückstands nach 28 Tagen Lagerung in EDTA-Lösung.

Bei der biomimetischen Mineralisation von Fluorapatit in Gelatinegel kommt es ebenso wie bei Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  zu Verwachsung der organischen Matrix mit der Kristallphase [Bus99, Bus03]. Während die Calciumphosphat-Kompositpartikel durch Komplexbildung mit EDTA zunächst im Partikelinneren resorbiert werden, wird die anorganische Phase der calcitischen Komposite von der Oberfläche ausgehend gelöst. Obwohl die ursprüngliche Gestalt eines organischen Rückstands nach 28 Tagen durch Gefrierdrying überprägt ist, ergeben sich Rückschlüsse auf die Verwachsungsverhältnisse: Die wabenartigen Strukturen des organischen „Negativs“ weisen in Richtung des Partikelinneren. Es erscheint plausibel, daß die resorbierte Kristallphase ausgehend von dem Partikelinneren strukturkonform mit dem organischen Negativ verwachsen war. Nähere Erkenntnisse über die kristallographische Internstruktur der Mineralisationsprodukte ermöglicht die polarisationsmikroskopische Charakterisierung.

### 6.1.3 Polarisationsmikroskopie

Die polarisationsmikroskopische Aufnahme eines Dünnschliffs typischer Produkte der Kristallisation in Gelatinegel ist in Abbildung 6.1-5a wiedergegeben. Es lassen sich zwei Schnittlagen der hantelähnlichen Partikel unterscheiden: Während Schnitte parallel der Hantel-Längsachse an einer Einschnürung, die zwei gleichartige Hälften trennt, zu erkennen sind (*Längsschnitte*), entsprechen rundliche Umriss einer Schnittlage senkrecht der Hantel-Längsachse (*Kopfschnitte*). Bei gekreuzten Polarisatoren führt eine Drehung des Probenstüchchens zu bereichsweiser Auslöschung. Längsschnitte weisen in den gleichartigen Hälften jeweils Segmente auf, die sich paarweise in Auslöschungsstellung befinden (Pfeile in Abbildung 6.1-5a). Demnach liegen in den beiden Hälften der hantelähnlichen Partikel Bereiche mit einheitlicher kristallographischer Orientierung vor. Ausgehend von der Partikelmittle sind diese Bereiche von gebogenen Grenzen umgeben. Bei Drehung der Kopfschnitte um  $120^\circ$  wird jeweils ein anderes Segment ausgelöscht, so daß sich für Schnitte senkrecht der Hantel-Längsachse eine Dreiteilung ergibt. Offensichtlich setzen sich die hantelähnlichen Mineralisationsprodukte aus drei Bereichen einheitlicher kristallographischer Orientierung bzw. drei unterschiedlichen Kristallindividuen zusammen.

Der Vergleich von Dünnschliffen unterschiedlicher Dicke belegt, daß die hellen Interferenzfarben der Längsschnitte auf hohe Doppelbrechung bei einem Schnitt annähernd parallel der optischen Achse des Calcits zurückzuführen sind. Die kräftigen Farben der Kopfschnitte entstehen demgegenüber bei niedriger Doppelbrechung, entsprechend einer Orientierung etwa senkrecht der optischen Achse. Da die optische Achse des Calcits der kristallographischen c-Achse (bei Aufstellung im hexagonalen System) entspricht, ist es möglich die räumliche Verwachsung der drei Bereichen einheitlicher kristallographischer Orientierung mit einem Universaldrehtisch zu bestimmen. Durch Drehung der Probe in allen Raumrichtungen können die optischen Achsen dieser Bereiche und deren Orientierung zueinander bestimmt werden. In Abbildung 6.1-5b sind die Ergebnisse der Orientierungsanalyse skizziert: Die c-Achsen der einzelnen Kristallindividuen sind um etwa 5° gegen die Längsachse der hantelähnlichen Mineralisationsprodukte geneigt. Senkrecht zur Partikel-Längsachse beträgt der Winkel zwischen den drei Kristallindividuen 120°.



**Abbildung 6.1-5:** **a)** Polarisationmikroskopische Aufnahme einiger Produkte der Mineralisation in Gelatinegel (gekreuzte Polarisatoren), Bereiche einheitlicher Orientierung sind markiert, **b)** Schematische Darstellung der räumlichen Orientierung der unterschiedlichen Kristallindividuen (stereographische Projektion).

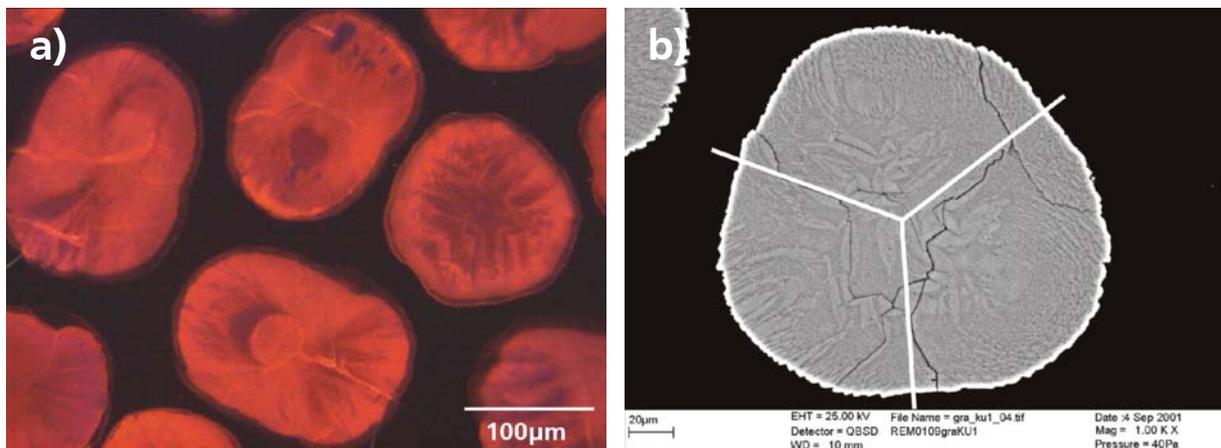
Die polarisationsmikroskopischen Untersuchungen weisen eine Zwillingsstruktur der Mineralisationsprodukte nach. Augenscheinlich sind drei unterschiedliche Bereiche einheitlicher kristallographischer Orientierung in der Art eines Durchdringungsdrillings miteinander verwachsen. Allerdings sind die kristallographischen c-Achsen der Kristallindividuen nur etwa 5° gegen die Längsachse der hantelähnlichen Mineralisationsprodukte geneigt. Häufig täuschen Verzwilligungen eine höhere Symmetrie des Makrokristalls vor [Rös91]. Die Verzwilligung der hantelähnlichen Mineralisationsprodukte entspricht jedoch den Symmetrieelementen des Calcits. Für die Makrokristalle ergibt sich somit eine Symmetrie entsprechend der ditrigonal-skalenoedrischen Kristallklasse ( $\bar{3} 2/m$ ). Der gebogenene Verlauf der Grenzfläche zwischen Bereichen einheitlicher Auslöschung weist auf ungewöhnliche Verwachsungsverhältnisse hin.

Die beobachtete Verzwilligung läßt sich nicht durch die klassischen Zwillingsgesetze des Calcits beschreiben. Offensichtlich bewirkt das gelartige Kristallisationsmilieu diese untypische Struktur. Daher sollen im folgenden gefügekundliche Untersuchungen Rückschlüsse auf die Wirkungsweise der inkorporierten organischen Matrix ermöglichen.

### 6.1.4 Gefügeuntersuchungen

Die räumliche Verwachsung der Kristallphase mit dem inkorporierten Gelatinegel läßt sich mit einem optischen Kathodolumineszenzmikroskop (KL-Mikroskopie) an  $Mn^{2+}$ -dotierten Proben untersuchen. Da  $Ca^{2+}$  im Kristallgitter des Calcits diadoch durch  $Mn^{2+}$  ersetzt werden kann, kommt es zu Anreicherung dieser extrinsischen Lumineszenzzentren in der anorganischen Phase. Daher ist die Kristallphase der Kompositpartikel in Vergleich zu der inkorporierten organischen Matrix durch intensivere Fluoreszenz charakterisiert. In Abbildung 6.1-6a ist eine kathodolumineszenzmikroskopische Aufnahme eines Dünnschliffs dargestellt. Die uneinheitliche Färbung der Mineralisationsprodukte weist auf eine heterogene Verwachsung der organischen Matrix mit der Kristallphase hin. Wegen der begrenzten Auflösung der optischen KL-Mikroskopie ist es nicht möglich, auf den Charakter der submikroskopischen Verwachsung zu schließen. Es läßt sich jedoch feststellen, daß die organische Matrix bevorzugt in den zentralen Bereichen der gleichartigen Hälften der hantelähnlichen Mineralisationsprodukte angereichert ist.

Genauere Aussagen zu dem Kompositgefüge der Mineralisationsprodukte ergeben sich aus REM-Aufnahmen (Abbildung 6.1-6b). Bei Untersuchung eines angeschliffenen Mineralisationsprodukts im Rückstreuелеktronenmodus (REM-BSE) erkennt man Bereiche mit unterschiedlicher Helligkeit. Es ist eine zwiebelartige Wechsellagerung dunklerer Bereiche mit intensitätsstärkeren Lagen zu beobachten. In dem abgebildeten Kopfschnitt sind in Übereinstimmung mit der polarisationsmikroskopischen Aufnahme (Abbildung 6.1-5a) drei gleichartige Bereiche, entsprechend den einzelnen Zwillingsindividuen, auszumachen.



**Abbildung 6.1-6:** a) KL-mikroskopische Aufnahme eines Dünnschliffs der Mineralisationsprodukte aus Gelatinegel, b) REM-BSE Aufnahme eines Anschliffs, Bereiche einheitlicher kristallographischer Orientierung sind markiert.

Da die Anzahl der rückgestreuten Elektronen (bzw. die Helligkeit) von der Ordnungszahldichte des abgerasterten Probenvolumens abhängt, weisen dunklere Bereiche auf eine verhältnismäßig geringe Ordnungszahldichte hin. Nachdem ein heterogenes Kompositgefüge durch KL-Mikroskopie nachgewiesen wurde, kann der Kontrast des REM-BSE Bildes auf die Inkorporation der organischen Matrix zurückgeführt werden. Bereiche mit einem hohen Anteil inkorporierter organischer Substanz streuen Elektronen weniger stark zurück, so daß sie vergleichsweise dunkel erscheinen. Die Orientierung der Verwachsung stimmt mit der

dreizähligen Symmetrie der polarisationsmikroskopisch untersuchten Kopfschnitte überein. Die jeweiligen Zwillingsindividuen zeichnen sich in dieser Schnittlage durch ein zwiebelartiges Verwachsungsgefüge aus. Diese lamellare Wechsellagerung entspricht einer parallelen Verwachsung der organischen Substanz mit der Kristallphase.

Mit einem Transmissionselektronenmikroskop (TEM) kann das nanostrukturierte Gefüge ionengedünnter Kompositpartikel untersucht werden. Auf der TEM-Aufnahme sind helle, perlenschnurartige Linien im durchstrahlbaren Bereich der Probe zu erkennen. Diese hellen Bereiche sind parallel zu dunkleren Zonen angeordnet (Markierung in Abbildung 6.1-7). Ein Präparationsartefakt kann ausgeschlossen werden, da die Orientierung der Streifung in zwei unmittelbar benachbarten Bereichen der Probe, die von einer Korngrenze getrennt sind, uneinheitlich ist.



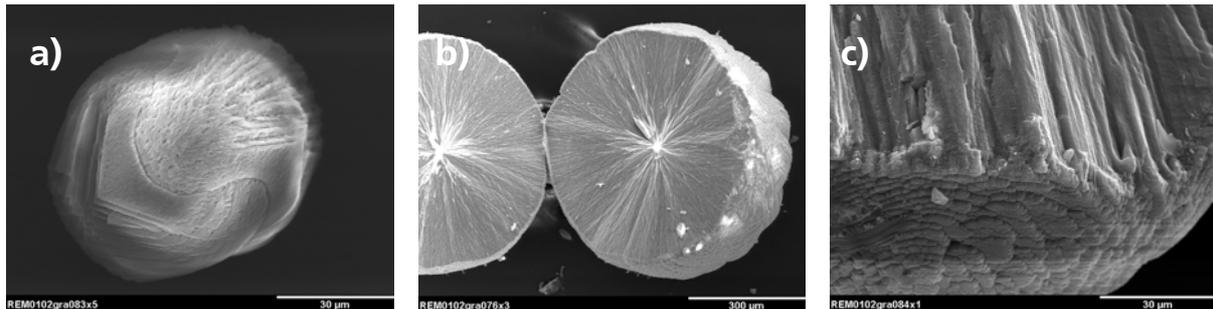
**Abbildung 6.1-7:** TEM-Aufnahme einer ionengedünnten Probe, die die Orientierung der Verwachsung ist hervorgehoben.

Da organische Moleküle weniger stark Elektronen streuen als die calcitische Kristallphase, können die hellen Streifen der TEM-Aufnahme auf Bereiche mit höherem Organik-Gehalt hinweisen. Demzufolge kommt es bei der Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  in Gelatinegel zu einer nanoskopisch heterogenen Verwachsung der anorganischen Phase mit dem organischen Netzwerk. Das parallele Kompositgefüge weist auf eine anisotrope Orientierung der organischen Substanz hin. Offenbar wird das Gelatinegel während des Kristallwachstums parallel der Kristallphase ausgerichtet, so daß es zu strukturkonformer Inkorporation der organischen Matrix in das wachsende Komposit kommt.

### 6.1.5 Kristallwachstum

Um Rückschlüsse auf den Kristallisationsmechanismus von Calcit in Gelatinegel zu erlangen, wurden einige Doppeldiffusionsversuche nach wenigen Tagen abgebrochen. Nach einer Versuchsdauer von 72 Stunden lassen sich die in Abbildung 6.1-8a dargestellten Partikel aus dem Gelatinegel präparieren. In diesem frühen Wachstumsstadium ist bereits die resultierende hantelähnliche Morphologie vorgeprägt. Im REM sind Kristallflächen mit einem Kantenwinkel von etwa  $104^\circ$  zu erkennen, entsprechend dem Flächennormalenwinkel der Spaltrhomboederflächen des Calcits. Unterschiedliche Sätze derartiger Flächen sind um  $60^\circ$

gegeneinander verdreht. Die distalen Enden der ellipsoidalen Partikel sind von Sätzen gestaffelter Kristallkanten begrenzt. Bei genauerer Betrachtung wird deutlich, daß sich diese Staffelung aus zunehmender Auffächerung der Spaltrhomboederflächen ergibt. Neben diesen juvenilen Terrassenflächen sind porös erscheinende Bereiche, die nicht von Kristallflächen begrenzt sind, zu sehen. An Spaltstücken von Mineralisationsprodukten wird ein radialstrahlig-stengeliges Gefüge (Abbildung 6.1-8b) deutlich. In Abbildung 6.1-8c ist zu erkennen, daß mehrere der konstituierenden Kristallnadeln an der Partikeloberfläche in gemeinsamen Kristallflächen abschließen.



**Abbildung 6.1-8:** a) REM-Aufnahme einer frühen Wachstumsphase (72 h) der Mineralisationsprodukte aus Gelatinegel, b) Spaltstück eines Produkts nach 28 Tagen Versuchsdauer, c) REM-Aufnahme des Spaltstücks im Bereich der Oberfläche.

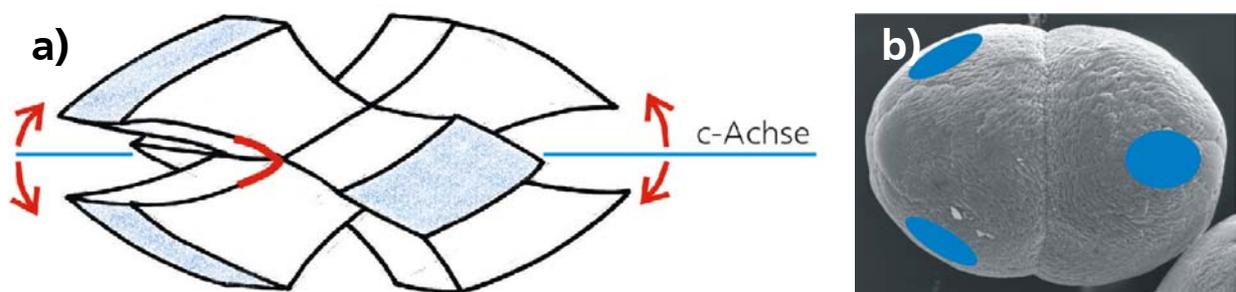
Die REM-Aufnahme einer frühen Wachstumsphase der Mineralisationsprodukte zeigt neben einer porösen Zone gestaffelte Sätze von Spaltrhomboederflächen. Offenbar handelt es sich dabei um ein frühes Stadium der Terrassenflächen der später hantelähnlichen Mineralisationsprodukte. Durch KL-Mikroskopie wurde ein zentraler Bereich mit hohem Anteil organischer Substanz nachgewiesen (vgl. 6.1.4). Es ist naheliegend, daß diese Zone den porösen Bereichen auf der Oberfläche der juvenilen Mineralisationsprodukte entspricht. Offenbar werden in diesem frühen Wachstumsstadium größere Anteile des organischen Kristallisationsmediums in die Kompositpartikel eingeschlossen.

Das radialstrahlig-stengelige Gefüge der Makrokristalle kennzeichnet ein Wachstum, das von einem zentralen Keimkristall ausgeht. Da Dünnschliffe der Proben jedoch im Polarisationsmikroskop (bei gekreuzten Polarisatoren) kein Brewster-Kreuz (Abbildung 6.1-5a) aufweisen, ist das radialstrahlige Gefüge nicht auf einen sphärolitischen Wachstumsmechanismus zurückzuführen. Die konstituierenden Kristallnadeln sind bereichsweise einheitlich orientiert, so daß bei gekreuzten Polarisatoren eine Zwillingsstruktur zu beobachten ist. Auf der Oberfläche der Makrokristalle schließen diese einheitlich orientierten Kristallnadeln in gemeinsamen Terrassenflächen ab. Offensichtlich bewirkt die organische Matrix zu einem frühen Zeitpunkt der Kristallisation die Bildung zahlreicher Kristallnadeln, die sich in drei Hauptorientierungen organisieren.

### ***Kristallisationsmechanismus***

Die Kombination der Untersuchungsergebnisse des Kristallwachstums (vgl. 6.1.5) und des Kompositgefüges (vgl. 6.1.4) ermöglicht Rückschlüsse auf die Wirkungsweise der Gelatinegel-

Matrix während der Mineralisation: Es ist davon auszugehen, daß zu einem frühen Zeitpunkt der Kristallisation Polymerstränge der Gelmatrix mit der Wachstumsfront eines Keimkristalls wechselwirken. Die organischen „Verunreinigungen“ bewirken durch Verwachsung mit der Kristallphase die Auflösung der Wachstumsfläche unter Bildung zahlreicher Kristallnadeln. Ausgehend von der rhomboedrischen Grundform des Keims erfolgt für die jeweiligen Kristallnadeln eine weitgehend eindimensionale Verschiebung der Wachstumsfront, so daß ein Flächenwachstum der rhomboedrischen Gleichgewichtsform ausbleibt. Stattdessen führt die strukturkonforme Anreicherung des Polymers zu Auffächerung der wachsenden Kristallnadeln. Dieses hypothetische Wachstumsstadium entspricht in einer zweidimensionalen, schematischen Projektion einem verzerrten „eisernen Kreuz“. In der räumlichen Darstellung (Abbildung 6.1-9a) ergeben sich auf den sechs Rhomboederflächen keilartige Aufwachsungen, die von trapezartigen Flächen begrenzt sind. Zur Veranschaulichung sind in Abbildung 6.1-9b die entsprechenden Flächen eines hantelähnlichen Mineralisationsprodukts hervorgehoben. Es wird deutlich, daß die Endflächen der keilförmigen Aufwachsungen den Terrassenflächen der Mineralisationsprodukte entsprechen. Kompositpartikel, die nach 72 Stunden aus dem Gelatinegel präpariert wurden, weisen einen zentralen Bereich hoher Porosität auf (Abbildung 6.1-8a). Diese Zone ist in der schematischen Darstellung nicht von der Kristallphase eingenommen, so daß es in diesem Bereich zu vermehrter Inkorporation von Gelatinegel kommen kann.



**Abbildung 6.1-9:** a) Schematische Darstellung der Verzwilligung der Mineralisationsprodukte aus Gelatinegel, b) REM-Abbildung eines typischen Mineralisationsprodukts aus Gelatinegel, die Terrassenflächen sind hervorgehoben.

Im Verlauf des Wachstums kommen sich die aufgefücherten Aufwachsungen an den distalen Enden der hantelähnlichen Partikel nahe. Aus sterischen Gründen ergibt sich somit eine Verkippung relativ zu der Hantel-Längsachse. Diese Fehlorientierung führt dazu, daß jeweils paarweise die Bereiche, die den gegenüberliegenden Rhomboederflächen des Keimkristalls aufgewachsen sind, einheitliche Orientierung aufweisen. Die resultierende Struktur der Makrokristalle entspricht daher einem Durchdringungsdrilling. Während jedoch üblicherweise davon ausgegangen wird, daß Zwillingsstrukturen bereits in einer sehr frühen Phase der Kristallisation vorgegeben sind [Rös91], ist die beschriebene Verzwilligung der Mineralisationsprodukte des Gelatinegels das Ergebnis eines spezifischen Wachstumsprozesses.

### 6.1.6 Zusammenfassung

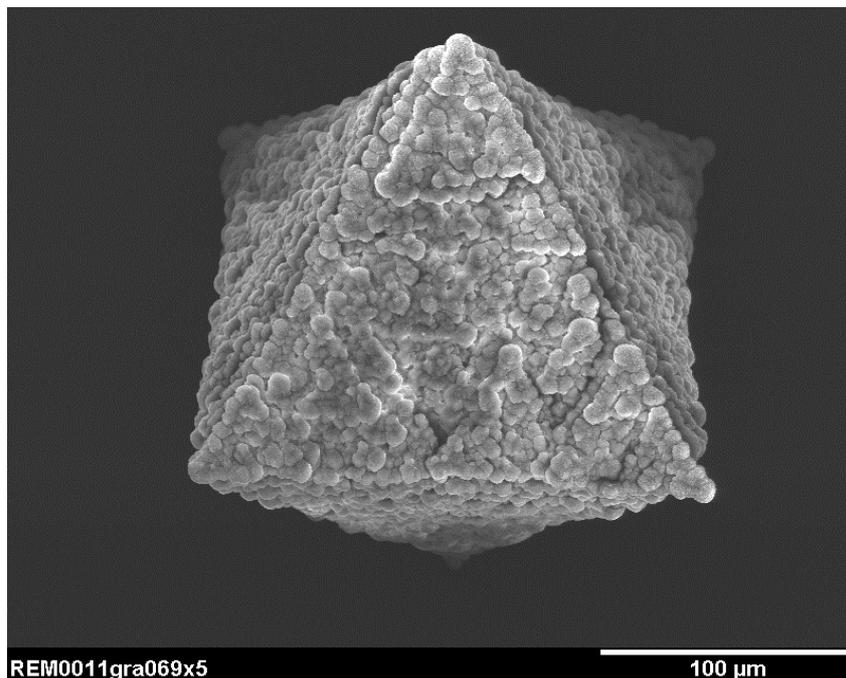
Die Wirkungsweise der organischen Matrix auf die Mineralisation von  $\text{CaCO}_3$  in Gelatinegel wird durch die jeweiligen lokalen Übersättigungsverhältnisse überprägt. Die funktionellen Gruppen der Gelatine haben keinen wesentlichen Effekt auf die Mineralisation, allerdings führt die strukturkonforme Verwachsung der organischen Matrix mit der Kristallphase zu einem spezifischen Wachstumsprozeß. Verunreinigungen auf der Oberfläche eines Keimkristalls bewirken eine eindimensionale Verschiebung der Wachstumsfront zahlreicher Kristallnadeln. Inkorporation des Gelatinegels zwischen den Kristalliten führt zu Auffächerung der Aufwachsungen, so daß es während des Kristallwachstums zu paarweiser Fehlorientierung einheitlicher Bereiche der Mineralisationsprodukte kommt. Die resultierende Struktur der Makrokristalle entspricht der eines Durchdringungsdrillings.

## 6.2 Mineralisation in poly-Acrylamid

Poly-Acrylamid ist ein rein synthetisches Netzwerk, dessen chemische Zusammensetzung wenig Gemeinsamkeiten mit biologischen extrazellulären Matrices aufweist. Das Hydrogel-Netzwerk enthält keine ionischen funktionellen Gruppen, so daß der rein physikalische Einfluß des Netzwerkes auf Diffusion, lokale Übersättigung und somit Mineralisation deutlich wird. Poly-Acrylamid-Hydrogel soll als Blindprobe für die später folgenden Mineralisationsexperimente in mit polaren Gruppen funktionalisierten Copolymeren dienen.

### 6.2.1 Mineralisationsprodukte

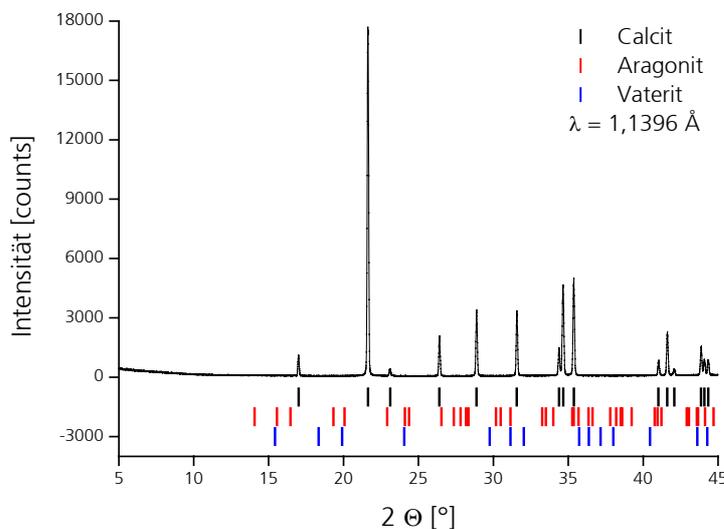
Bei der Doppeldiffusion von  $\text{CaCl}_2$ - und  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung in einem poly-Acrylamid-Netzwerk (poly-AAm) sind nach etwa 50 Stunden erste Produkte mit bloßem Auge sichtbar. Nach einer Mineralisationsdauer von einer Woche haben sich in dem gesamten Gelvolumen 150-250  $\mu\text{m}$  große polyedrische Präzipitate mit scheinbar kubischer Symmetrie gebildet. Im weiteren Verlauf der Mineralisation nimmt die Größe der Mineralisationsprodukte nicht mehr wesentlich zu. Die Morphologie der Präzipitate ist unabhängig von dem Ort der Kristallisation in dem Gelkörper: Die makroskopischen Produkte sind von acht Flächen begrenzt und weisen einen isometrischen Habitus auf, die Form ähnelt der eines kubischen Oktaeders (Abbildung 6.2-1).



**Abbildung 6.2-1:** Raster-elektronenmikroskopische Aufnahme eines typischen Mineralisationsprodukts aus poly-Acrylamid nach 7 Tagen Versuchsdauer.

Im Gegensatz zu der Mineralisation in Gelatinegel (vgl. **6.1**) hat das lokale chemische Milieu während der Doppeldiffusion nur einen geringen Einfluß auf die Morphogenese. Obwohl Calcit eines der formenreichsten Minerale der Erde ist und geringe Änderungen des Wachstumsmilieus sich üblicherweise in der Morphologie der Kristalle niederschlagen [Ram67], ist die Erscheinungsform in dem poly-AAm-Gelkörper nur geringen Schwankungen unterworfen. Offensichtlich wird der Effekt der lokalen chemischen Verhältnisse von der physikalischen Netzwerkstruktur des poly-AAm überkompensiert.

Mit einem konventionellen Röntgenpulverdiffraktometer (Cu-Anode) wurde als einzige Phase Calcit nachgewiesen. Da die oktaedrische Form der Mineralisationsprodukte Calcit-untypisch ist, wurden zusätzliche Messungen an einer Synchrotron-Strahlenquelle (DESY-HASYLAB) durchgeführt. Aufgrund der intensitätsstarken Strahlung können auch geringe Anteile kristalliner Nebenphasen detektiert werden (Nachweisgrenze: ca. 0,2 Vol.-% [Has00]). In Übereinstimmung mit der konventionellen Methode weist das Synchrotron-Röntgendiffraktogramm als einzige Phase die  $\text{CaCO}_3$ -Modifikation Calcit nach (Abbildung 6.2-2). Die Halbwertsbreite (FWHM) des  $(10\bar{1}4)$  Beugungsmaximums entspricht mit einem Wert von  $0,1^\circ$  der gerätebedingten Halbwertsbreite.

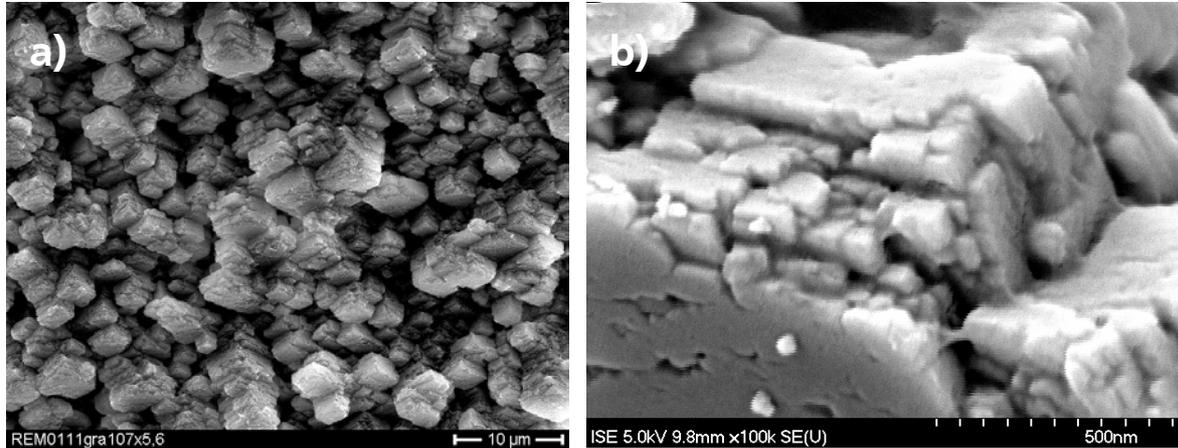


**Abbildung 6.2-2:** Röntgenpulverdiffraktogramm (Synchrotron-Strahlung) der oktaedrischen Mineralisationsprodukte.

Es sind zahlreiche Formenkombinationen geogener Calcit-Kristalle bekannt [Rös91], die beobachtete oktaedrische Form der Mineralisationsprodukte ist jedoch bisher nicht beschrieben [Gra03a]. Allerdings können in der unbelebten Natur pseudomorphe Phasenumwandlungen zu ungewöhnlichen Formen führen. Da auch im Synchrotron-Diffraktogramm keine Nebenphasen nachweisbar sind, können polymorphe sowie pseudomorphe Umwandlungen einer kubischen Vorläuferphase nahezu ausgeschlossen werden. Aus der geringen Halbwertsbreite der Bragg-Reflexe kann auf die Größe der streuenden Bereiche geschlossen werden: Offensichtlich ist die kohärente Länge der Gitterbausteine hinreichend groß, so daß bei Abweichungen von den Bedingungen der Bragg'schen Gleichung die gebeugte Strahlung destruktiv interferiert und scharfe Beugungsmaxima entstehen. Demnach kann für die Größe kohärent streuender Bereiche ein Wert von mindestens 100 nm angenommen werden [All94].

Bei Untersuchung der Oktaeder-Oberfläche mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM) ist zu erkennen, daß die oktaedrischen Mineralisationsprodukte aus zahlreichen rhomboedrischen „Subkristallen“ mit bis zu  $5\ \mu\text{m}$  Durchmesser zusammengesetzt sind (Abbildung 6.2-3a). Die Flächennormalenwinkel der Subkristalle lassen sich abschätzen und entsprechen mit Werten von  $104^\circ$  bzw.  $76^\circ$  den Winkeln zwischen den  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen der Calcit-Gleichgewichtsform. Die Spitzen der einzelnen Rhomboeder ragen annähernd senkrecht aus den Oktaederflächen, die

dreizähligen Achsen verlaufen parallel der dreizähligen Achse des Makrokristalls. Bei genauere Untersuchung der Oberfläche mit einem hochauflösendem REM (100.000 fache Vergrößerung) wird deutlich, daß die Subkristalle ihrerseits aus zahlreichen kleineren Rhomboedern aufgebaut sind (Abbildung 6.2-3b).



**Abbildung 6.2-3:** **a)** REM-Aufnahme der Oktaeder-Oberfläche (500 fache Vergrößerung), **b)** Hochauflösende REM-Aufnahme der oktaedrischen Mineralisationsprodukte (100.000 fache Vergrößerung).

Während geogene Calcit-Kristalle üblicherweise von glatten Kristallflächen begrenzt sind, setzt sich die Oberfläche der Mineralisationsprodukte aus rhomboedrischen Subkristallen mit breiter Größenverteilung zusammen. Bei Vergleich von Abbildung 6.2-3a mit Abbildung 6.2-3b wird eine selbstähnliche Oberflächenstruktur der oktaedrischen Makrokristalle deutlich. Vergleichbare Phänomene sind für die Kristallisation von Fluorapatit in einem Gelatinegel beschrieben und werden auf einen fraktalen Wachstumsmechanismus zurückgeführt [Kni96].

Offensichtlich ermöglicht das poly-AAm-Netzwerk einen ungewöhnlichen Kristallisationsmechanismus, der zu oktaedrischen Mineralisationsprodukten führt. Um den Effekt der organischen Matrix auf die Mineralisation zu bewerten, sollen daher zunächst die Verwachsungsverhältnisse der Kristallphase mit dem Gelmedium untersucht werden.

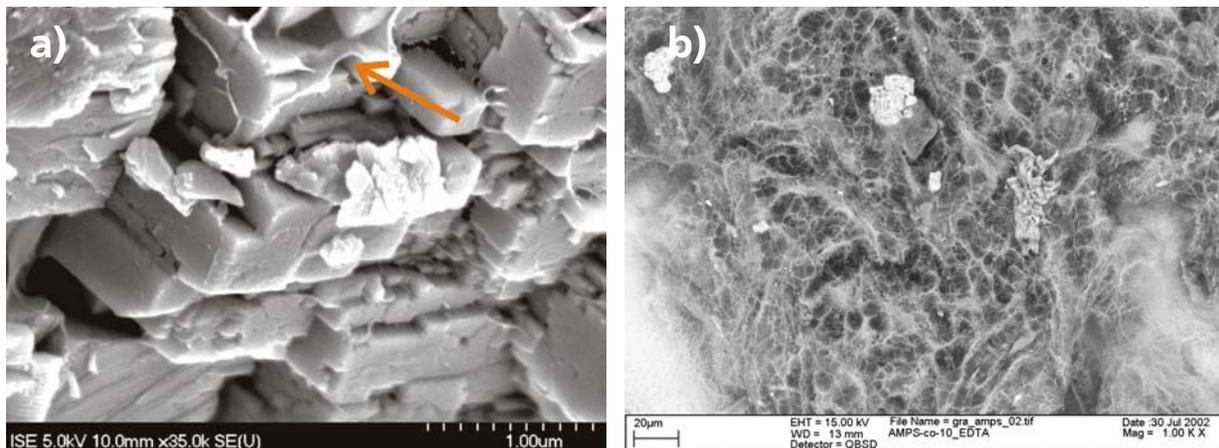
### 6.2.2 Kompositcharakter

Thermogravimetrische Untersuchungen ermöglichen eine Quantifizierung des Organik-Gehalts der Mineralisationsprodukte. Zu diesem Zweck wurden einige Aggregate mit einer Pinzette aus der Hydrogelmatrix herauspräpariert und 5 Minuten in einer NaOCl-Lösung gespült um anhaftende Gelreste abzutrennen. Aus der temperaturabhängigen Massenabnahme gemörserter Proben ergibt sich der mit den Mineralisationsprodukten verwachsene Gehalt an organischer Substanz. Die Massenabnahme während des Aufheizens bis 650°C weist einen Organik-Gehalt von 0,7 Gew.-% bzw. 1,6 Vol.-% aus.

Für eine volumenkonforme Verwachsung des Gelmediums mit der Kristallphase errechnet sich, bei bekannter Gelkonzentration, ein theoretischer Wert von 3,7 Gew.-% organischer Matrix. Die deutliche Differenz zu dem tatsächlichen Organik-Gehalt (0,7 Gew.-%) weist darauf hin, daß während des Kristallwachstums das Hydrogel-Netzwerk verdrängt wird. Demnach wird die

Gelmatrix in unmittelbarer Nachbarschaft zu dem wachsenden Mineralisationsprodukt verdichtet. Ausgehend von der Dichte des  $\text{CaCO}_3$  ( $2,72 \text{ g/cm}^3$ ) und des kompaktierten poly-AAm (ca.  $1,3 \text{ g/cm}^3$ ) läßt sich die Ausdehnung eines derartigen Grenzflächenbereichs abschätzen: Unter der Annahme einer hypothetischen Würfelform des wachsenden Komposits errechnet sich die Dicke der kompaktierten Hydrogel-Zone zu 2% der Kantenlänge. Für einen Würfel mit  $200 \mu\text{m}$  Kantenlänge, entsprechend der durchschnittlichen Größe der Mineralisationsprodukte nach einer Woche Versuchsdauer, ergibt sich eine Dicke des kompaktierten Gelbereichs von ca.  $4 \mu\text{m}$ .

Hochauflösende REM-Untersuchungen an Bruchstücken der oktaedrischen Mineralisationsprodukte lassen die eingewachsene, organische Substanz erkennen. Die Flächen der Calcit-Rhomboeder, die den Makrokristall aufbauen, sind von feinen hautartigen Hydrogelbestandteilen bedeckt (Markierung in Abbildung 6.2-4a). Nach 4 Wochen Lagerung der Mineralisationsprodukte in neutraler EDTA-Lösung verbleibt ein organischer Rückstand, der an Luft innerhalb kurzer Zeit stark zusammenschrumpft. Im nassen Zustand ähnelt die äußere Gestalt des Rückstands jedoch den ursprünglichen Mineralisationsprodukten. Sorgfältige Gefrierdrying ermöglicht die Untersuchung des organischen Rückstands mit einem analytischen REM. Die Struktur wird durch Kristallisation der Porenlösung verändert, dennoch ist ein feinverasteltes Netzwerk organischer Substanz zu erkennen (Abbildung 6.2-4b). Obwohl der gefriergetrocknete Rückstand nicht unmittelbar das molekulare Netzwerk des Hydrogels wiedergibt, ergeben sich Rückschlüsse auf die Struktur der inkorporierten Matrix: Die organische Matrix ist dispers in die Oktaeder eingewachsen, die Netzwerkstruktur bleibt dabei weitgehend erhalten.

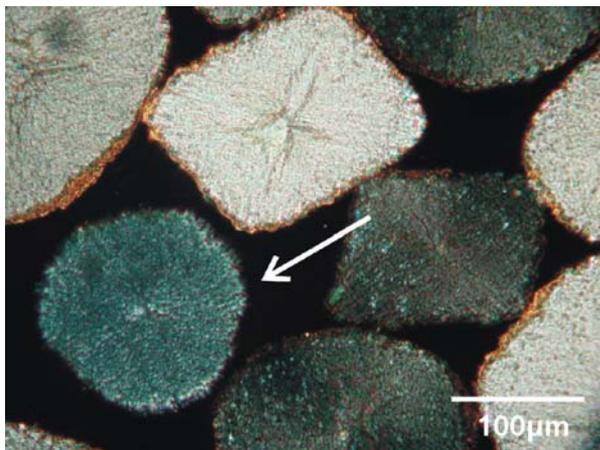


**Abbildung 6.2-4:** a) Hochauflösende REM-Aufnahme der Bruchfläche eines oktaedrischen Mineralisationsprodukts, eingewachsene Gelbestandteile sind mit einem Pfeil markiert, b) organischer Rückstand nach selektiver Komplexierung mit EDTA-Lösung.

Die schwammartige Struktur des organischen Rückstands nach selektiver Komplexierung mit neutraler EDTA-Lösung legt die Vermutung nahe, daß die Keimbildung einzelner Subkristalle in jeweils unabhängigen Poren des Hydrogel-Netzwerks erfolgt. Die wachsenden Calcit-Rhomboeder können das kovalent vernetzte Hydrogel verdrängen, so daß der Organik-Gehalt der makrokristallinen Aggregate verhältnismäßig gering ist.

### 6.2.3 Polarisationsmikroskopie

Dünnschliffe der oktaedrischen Mineralisationsprodukte wurden mit einem Polarisationsmikroskop im Durchlicht analysiert. Bei gekreuzten Polarisatoren befinden sich einige der kristallinen Aggregate in Auslöschungsstellung (Abbildung 6.2-5). Allerdings sind die Mineralisationsprodukte auch in Dunkelstellung schwach doppelbrechend. Drehung des Proben­tisches um  $45^\circ$  führt zu Aufhellung der meisten dieser Kristalle. Aggregate mit rhombischem Umriß zeigen dabei besonders intensive Interferenzfarben. Demgegenüber verbleiben einige Mineralisationsprodukte, die durch einen trigonalen Umriß gekennzeichnet sind, bei Drehung des Proben­tisches permanent in Auslöschungsstellung (Markierung in Abbildung 6.2-5).



**Abbildung 6.2-5:** Polarisationsmikroskopische Aufnahme eines Dünnschliffes (gekreuzte Polarisatoren), eine isotrope Schnittlage ist mit einem Pfeil markiert.

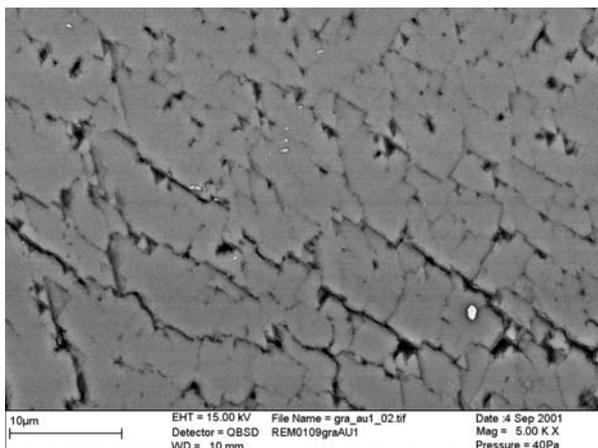
Die näherungsweise einheitliche Auslöschung der Mineralisationsprodukte charakterisiert eine einkristalline Struktur. Während jedoch ideale Einkristalle in Auslöschungsstellung schwarz erscheinen, weisen die Mineralisationsprodukte auch hellere Bereiche auf. Offensichtlich befinden sich Bereiche dieser Aggregate, aufgrund von Fehlorientierungen der Gitterbausteine, nicht in Dunkelstellung.

Die isotrope Eigenschaft der trigonalen Anschnitte ist auf eine Schnittlage senkrecht der optischen Achse des Calcits zurückzuführen. Da die optische Achse des Calcits mit der kristallographischen  $c$ -Achse zusammenfällt, entspricht dies einem Schnitt senkrecht zu einer der dreizähligen Achsen der oktaedrischen Aggregate. Aus den REM-Untersuchungen der Oktaeder-Oberfläche (vgl. **6.2.1**) geht hervor, daß es sich demnach um einen Schnitt parallel einem Flächenpaar des Makrokristalls handelt. Im Gegensatz zu diesen isotropen Schnittlagen entsprechen Aggregate mit besonders hellen Interferenzfarben einer Orientierung parallel der optischen Achse. Der rhombische Umriß dieser Mineralisationsprodukte ergibt sich aus Schnitten durch die Mitte der Körper, die spitzen Winkel der Anschnitte korrespondieren mit den Oktaederspitzen des Makrokristalls.

Da das Auflösungsvermögen der optischen Mikroskopie begrenzt ist, erfolgten weitere gefügekundlichen Untersuchungen mit elektronenmikroskopischen Methoden.

### 6.2.4 Gefügeuntersuchungen

Anschliffe einiger Mineralisationsprodukte wurden mit einem REM im Rückstreuелеktronenmodus untersucht (Abbildung 6.2-6). In Übereinstimmung mit der Oktaeder-Oberfläche, die sich aus zahlreichen Subkristallen unterschiedlicher Größe zusammensetzt, ist im Anschliff ein segmentiertes Gefüge zu sehen. Offenbar besteht das gesamte Volumen der Mineralisationsprodukte aus rhomboedrischen Subkristallen. Der Phasenkontrast der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme ist auf Hohlräume zwischen den einzelnen Rhomboedern zurückzuführen. Da die Grauwerte der Kristallphase und der Zwischenräume differieren, ist es möglich die Makroporosität mit einem Bildanalyse-system zu quantifizieren. Es ergibt sich ein Wert von  $6,9 \pm 1,7\%$ , wobei der verhältnismäßig große Fehler auf die inhomogene Verteilung der Poren zurückzuführen ist. Da die konstituierenden Subkristalle durch eine breite Größenverteilung gekennzeichnet sind (vgl. **6.2.1**), ist davon auszugehen, daß die Aggregate ebenso einen deutlichen meso- und mikroporösen Anteil aufweisen. Eine Bestimmung der spezifischen Oberfläche der Proben durch  $N_2$ -Sorption führte jedoch nicht zu verwertbaren Ergebnissen.



**Abbildung 6.2-6:** REM-Aufnahme eines Anschliffs im Rückstreuелеktronenmodus.

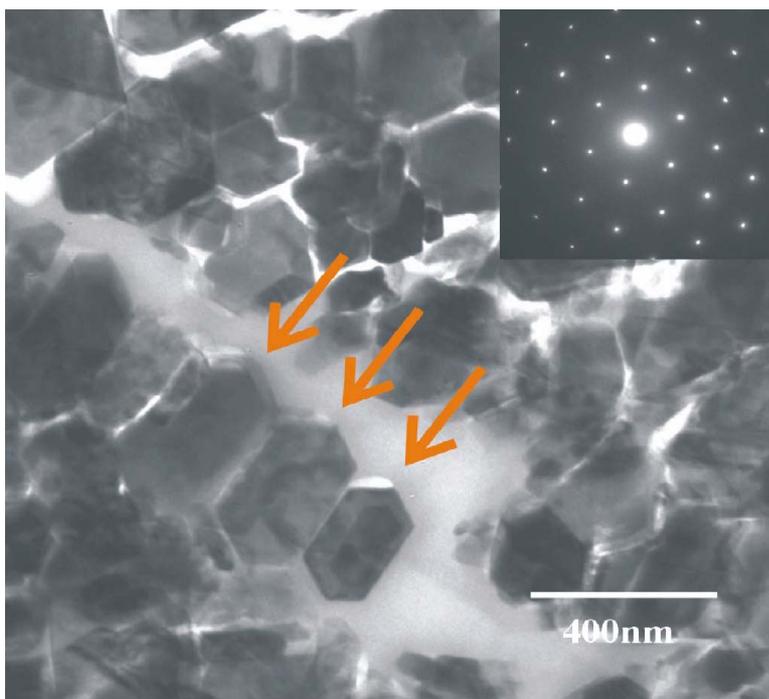
In Anlehnung an die Struktur des organischen Rückstands nach selektiver Komplexierung mit EDTA-Lösung (vgl. **6.2.2**) ist davon auszugehen, daß die inkorporierten Gelbestandteile vorzugsweise zwischen den Subkristallen angereichert sind. Da thermogravimetrisch nur eine Volumenanteil von 1,6% inkorporierter Matrix nachgewiesen wurde, kann die hohe Porosität der Proben ( $6,9 \pm 1,7\%$ ) nicht ausschließlich auf die Schrumpfung des eingewachsenen Gels zurückgeführt werden. Offensichtlich sind die den Makrokristall aufbauenden Subkristalle nicht bündig miteinander verwachsen, so daß die Porosität wesentlich auf Spalten und Zwickel zwischen den einzelnen Blöcken zurückzuführen ist.

Aussagen über das Mikrogefüge der Mineralisationsprodukte ergeben sich aus TEM-Untersuchungen an Microtomschnitten. Analog den Ergebnissen der REM-Analyse von Anschliffen ist zu erkennen, daß sich die Oktaeder aus zahlreichen Subkristallen zusammensetzen. Die abgebildeten Kristallbausteine sind bis zu 400 nm groß und haben überwiegend polyedrische Form. In Abbildung 6.2-7 sind drei parallel orientierte Kristallite mit annähernd hexagonalem Umriß gekennzeichnet. Durch Elektronenbeugung wurde eine einheitliche kristallographische Orientierung der drei Kristallite belegt. Die durchstrahlbaren

Spalten zwischen diesen Kristalliten weisen auf Bestandteile der inkorporierten Hydrogelmatrix hin. Spalten im oberen Bereich der Abbildung sind Folge der Probenpräparation („Shatter-Streifen“), bei dem hellen Bereich in der Mitte des Bildes handelt es sich um das als Einbettmittel verwendete Epoxidharz.

Offensichtlich sind die in Abbildung 6.2-7 hervorgehobenen „Kristallindividuen“ orientiert miteinander verwachsen. Da Elektronen nur in geringem Maße von organischen Phasen gestreut werden, ist es naheliegend, daß die durchstrahlbaren Spalten zwischen den Kristalliten auf die Inkorporation des Gelnetzwerks zurückzuführen sind. Wegen der methodischen Schwierigkeiten bei der Herstellung von Microtomschnitten ist jedoch nicht auszuschließen, daß es infolge mechanischer Beanspruchung zu einer Lockerung des Verbundes gekommen ist. Das hohe Auflösungsvermögen des TEM verdeutlicht, daß die mit dem REM abgebildeten Subkristalle auf der Oktaederoberfläche (Abbildung 6.2-3a) aus individuellen Kristallbausteinen bestehen. In Übereinstimmung mit dieser Beobachtung wurde mit einem hochauflösendem REM eine selbstähnliche Oberflächenstruktur der Mineralisationsprodukte nachgewiesen (Abbildung 6.2-3b).

Aus der Indizierung der Elektronenbeugungsbilder ergeben sich für die abgebildete Schnittlage der drei parallelen Kristallite folgende Millerindices:  $(10\bar{1}1)$ ,  $(01\bar{1}\bar{1})$ ,  $(\bar{1}10\bar{2})$ ,  $(\bar{1}01\bar{1})$ ,  $(0\bar{1}11)$  und  $(1\bar{1}02)$ . Die Indizierung der Beugungsbilder wurde durch Simulation der Elektronenbeugung unter Verwendung der Software ELDISCA bestätigt. Aus der Simulation ergibt sich eine Orientierung des Microtomschnitts senkrecht der  $\langle -110 \rangle$  Zonenachse. Unter der Annahme der rhomboedrischen Gleichgewichtsform des Calcits läßt sich der im TEM beobachtete Umriß der Schnittlage errechnen. Mit der Software SHAPE [Sha02] wurde ein hypothetischer Schnitt durch einen Calcit-Rhomboeder senkrecht der  $\langle \bar{1}101 \rangle$  Zone dargestellt. Der experimentelle Umriß der angeschnittenen Calcit-Rhomboeder wird näherungsweise bestätigt.



**Abbildung 6.2-7:** TEM-Aufnahme eines Mikrotomschnittes durch ein in poly-Acrylamid mineralisiertes Calcit-Oktaeder, Kristallite mit einheitlicher Orientierung sind markiert; das Elektronen-Beugungsbild der markierten Kristallite ist eingeschoben.

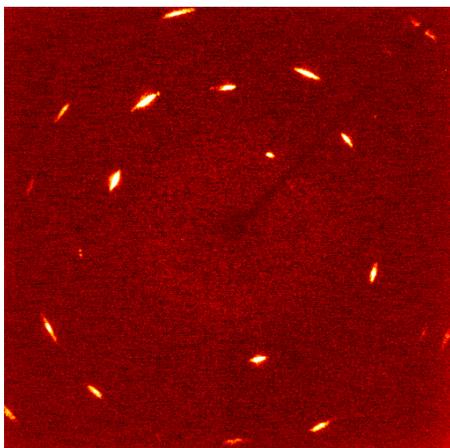
Obwohl  $\{10\bar{1}1\}$  Reflexe für die Raumgruppe des Calcits gemäß der allgemeinen Auswahlregeln verboten sind [Hah95], können diese Reflexe bei Elektronenbeugung durchaus auftreten: Da die Auslöschung auf die Gleitspiegelebene der Raumgruppe des Calcits zurückzuführen ist, kann es durch Umweganregung zu Beugung an  $\{10\bar{1}1\}$  Netzebenen kommen. Die Abweichungen der Kantenwinkel von simuliertem Schnitt und Microtomschnitt können auf geringe Unterschiede der Probenorientierung bei Elektronenbeugung bzw. mikroskopischer Aufnahme zurückgeführt werden.

### 6.2.5 Röntgenstrukturanalyse

Die Ergebnisse der polarisationsmikroskopischen Untersuchung sowie die im TEM beobachtete orientierte Verwachsung individueller Kristallite weisen auf eine einkristalline Struktur der makroskopischen Mineralisationsprodukte hin. Mittels Einkristallröntgendiffraktometrie wurden die Kristallstruktur der Oktaeder und die Verwachsungsverhältnisse der Kristallbausteine analysiert.

#### **Flächenindizierung**

Auf einem typischen Röntgenbeugungsbild (Abbildung 6.2-8) sind diskrete Maxima zu erkennen. Obwohl die Reflexe eine für Einkristalle ungewöhnliche Breite und Form aufweisen, sind keine zusammenhängenden Beugungsringe zu beobachten, wie es bei statistischer Verteilung der Streuzentren zu erwarten wäre.



**Abbildung 6.2-8:** Röntgenbeugungsbild eines einzelnen aus poly-AAm präparierten Aggregats.

Wegen des ausgeprägten Mosaiks und der ungewöhnlichen Intensitätsverteilung der Beugungsmaxima konnte die Diffraktometersoftware (SMART) keine Orientierungsmatrix für die Calcit-Oktaeder errechnen. Aus diesem Grund mußte die Orientierungsmatrix manuell bestimmt werden. Ausgehend von den theoretischen Netzebenenabständen des Calcits (JCPDS 05-0586) lassen sich die innersten Reflexe des Beugungsmusters folgenden Reflexgruppen zuordnen:  $\{01\bar{1}2\}$ ,  $\{10\bar{1}4\}$  und  $\{0006\}$ . Basierend auf einer „Dummy-Matrix“ (kubische Einheitsmatrix) wurden diese Reflexe anschließend mit der Software SMART indiziert. Die Winkel zwischen diesen (nicht-ganzzahligen) Indices lassen sich mit dem Programm DISCUS errechnen [Pro97]. Aus dem Vergleich der errechneten Winkel mit den theoretischen Winkeln zwischen den  $\{01\bar{1}2\}$ ,

{10 $\bar{1}$ 4} und {0006} Reflexen ergibt sich die Raumorientierung des Kristallgitters. Auf diese Weise ist es möglich, eine Transformationsmatrix von der ursprüngliche Dummy-Matrix zu der tatsächlichen Orientierungsmatrix aufzustellen. Mit einer verfeinerten Orientierungsmatrix wurden die richtigen Millerindices für die innersten Beugungsmaxima bestimmt. Außerdem konnten nun alle Reflexe des Beugungsmusters mit der verfeinerten Matrix indiziert werden. Eine makroskopisch einkristalline Struktur der oktaedrischen Mineralisationsprodukte wird dadurch belegt, daß sich alle Beugungsmaxima mit einer einzigen Matrix indizieren lassen. Das ausgeprägte Mosaik der Beugungsmaxima ist auf Abweichungen von der idealen, einkristallinen Struktur zurückzuführen.

Die Winkel zwischen den Flächen des oktaedrischen Einkristalls wurden optisch mit dem Mikroskop des Einkristalldiffraktometers bestimmt. Durch Drehung des Kristalls auf dem Glasfaden lassen sich die einzelnen Flächen parallel dem Mikroskop ausrichten. In Tabelle 6.2-1 sind die Winkel der acht Kristallflächen den theoretischen Werten eines idealen kubischen Oktaeders gegenübergestellt. Bemerkenswerterweise stimmen die gemessenen Flächennormalenwinkel weitgehend mit den theoretischen Winkeln eines kubischen Oktaeders überein. Daher ist es aus geometrischen Gründen gerechtfertigt, die Mineralisationsprodukte als „oktaedrisch“ zu bezeichnen.

**Tabelle 6.2-1:** Gemessene Flächennormalenwinkel zwischen den Flächen des (pseudo-)oktaedrischen Makrokristalls (oben rechts, grau unterlegt) und theoretische Flächennormalenwinkel eines idealen kubischen Oktaeders (unten links, kursiv); fett: Flächennummer.

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
<b>1</b>	0	173	104	75	73	108	79	107
<b>2</b>	<i>180</i>	0	74	107	100	79	105	69
<b>3</b>	<i>109</i>	<i>71</i>	0	177	66	111	59	113
<b>4</b>	<i>71</i>	<i>109</i>	<i>180</i>	0	111	72	123	65
<b>5</b>	<i>71</i>	<i>109</i>	<i>71</i>	<i>109</i>	0	176	108	68
<b>6</b>	<i>109</i>	<i>71</i>	<i>109</i>	<i>71</i>	<i>180</i>	0	69	114
<b>7</b>	<i>71</i>	<i>109</i>	<i>71</i>	<i>109</i>	<i>109</i>	<i>71</i>	0	171
<b>8</b>	<i>109</i>	<i>71</i>	<i>109</i>	<i>71</i>	<i>71</i>	<i>109</i>	<i>180</i>	0

Da es sich bei den Calcit-Oktaedern um (fehlgeordnete) Einkristalle handelt, ist es möglich, die Millerindices der makroskopischen Oktaederflächen zu bestimmen. Aus Abbildung 6.2-3a geht hervor, daß sich die Aggregate aus zahlreichen Calcit-Rhomboedern zusammensetzen. Die Ecken dieser Rhomboeder ragen näherungsweise senkrecht aus den Oktaederflächen, d.h. die vier Raumdiagonalen des Calcit-Spaltrhomboeders stehen etwa senkrecht auf den Oktaederflächen des Makrokristalls. Da die Millerindices des Spaltrhomboeders bekannt sind, ist es möglich, die Indices der Oktaederflächen geometrisch zu ermitteln. Aus der Vektoraddition

der rhomboedrischen Flächennormalen (unter Verwendung der rhomboedrischen Achsen-Notation) ergeben sich die Millerindices der korrespondierenden oktaedrischen Flächen.

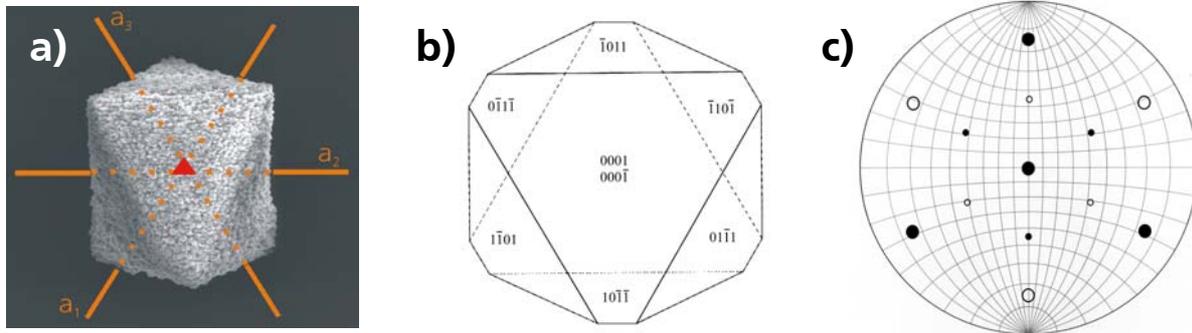
Die Flächennormalenwinkel der durch Vektoraddition ermittelten Millerindices wurde mit der Software DISCUS errechnet und mit den durch Ausrichtung entlang dem optischen Mikroskop bestimmten Winkeln der Oktaederflächen verglichen. Da die Werte nur unzureichend übereinstimmen, wurden die Millerindices der Oktaederflächen zusätzlich mit der verfeinerten Orientierungsmatrix ermittelt. Zunächst wurden die korrespondierenden Indices der optisch bestimmten Flächennormalenwinkel mit der Diffraktometer-Software SMART unter Verwendung der ursprünglichen Dummy-Matrix errechnet. Aus der Transformation in die verfeinerte Orientierungsmatrix ergeben sich die korrekten Millerindices der Oktaederflächen: (0001) (000 $\bar{1}$ ), (01 $\bar{1}$ 1) (0 $\bar{1}$ 1 $\bar{1}$ ), (1 $\bar{1}$ 01) ( $\bar{1}$ 10 $\bar{1}$ ) und ( $\bar{1}$ 011) (10 $\bar{1}$  $\bar{1}$ ). Aus dem Vergleich der theoretischen Normalenwinkel dieser Flächen (Tabelle 6.2-2 unten links) mit den tatsächlich gemessenen Winkeln (Tabelle 6.2-2 oben rechts) ergibt sich eine hinreichende Übereinstimmung. Demnach geben die errechneten Millerindices die tatsächlichen Flächen der oktaedrischen Aggregate wieder [Gra03a].

**Tabelle 6.2-2:** Gemessene Flächennormalenwinkel zwischen den Flächen des (pseudo-)oktaedrischen Makrokristalls (oben rechts, grau unterlegt) und Winkel zwischen Flächen, entsprechend den errechneten Millerindices (unten links, kursiv); fett: Flächennummer.

h	k	i	l		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
0	0	0	1	<b>1</b>	0	173	104	75	73	108	79	107
0	0	0	-1	<b>2</b>	180	0	74	107	100	79	105	69
0	-1	1	-1	<b>3</b>	104	76	0	177	66	111	59	113
0	1	-1	1	<b>4</b>	76	104	180	0	111	72	123	65
1	-1	0	1	<b>5</b>	76	104	66	114	0	176	108	68
-1	1	0	-1	<b>6</b>	104	76	114	66	180	0	69	114
-1	0	1	1	<b>7</b>	76	104	66	114	114	66	0	171
1	0	-1	-1	<b>8</b>	104	76	114	66	66	114	180	0

Mit dem Programm JCRYSTAL [Jcr00] läßt sich die theoretische Morphologie eines Polyeders mit den errechneten Millerindices simulieren. Tatsächlich ergeben die Formen {0001} und {01 $\bar{1}$ 1} einen Oktaeder-ähnlichen Körper (Abbildung 6.2-9b). Bei Vergleich mit der REM-Aufnahme eines Mineralisationsprodukts wird die Übereinstimmung von Simulation und realem Kristallaggregat deutlich (Abbildung 6.2-9a). In Abbildung 6.2-9c sind die Flächenpole der oktaedrischen Flächen (große Symbole) sowie die Flächenpole der rhomboedrischen {10 $\bar{1}$ 4} Form in einer stereographischen Projektion aufgetragen. Die Orientierung der einzelnen Calcit-Rhomboeder relativ zu den Oktaederflächen des Makrokristalls wird deutlich. Außerdem ist zu erkennen, daß die pseudo-kubische Morphologie der Mineralisationsprodukte mit den Symmetrieelementen der ditrigonal-skalenoedrischen Kristallklasse des Calcits übereinstimmt.

Die kristallographische c-Achse steht senkrecht auf dem {0001} Flächenpaar des oktaedrischen Makrokristalls, die zweizähligen a-Achsen des trigonalen Kristallsystems durchstoßen die Kanten zwischen den  $\{01\bar{1}1\}$  Flächen.



**Abbildung 6.2-9:** a) REM-Aufnahme eines oktaedrischen Mineralisationsprodukts aus poly-AAm, b) Modelldarstellung errechneter Formen, mit denen sich die Calcit-Oktaeder beschreiben lassen, c) stereographische Projektion der Flächenpole des Oktaeders (große Symbole) sowie die Pole eines Calcit-Rhomboeders (kleine Symbole).

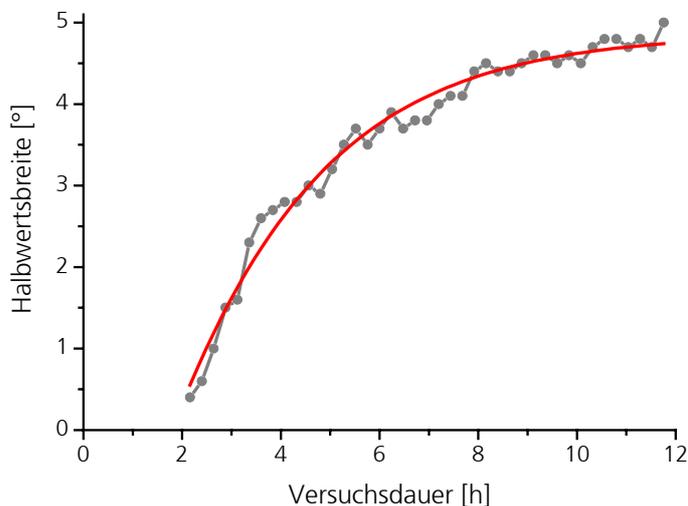
Die Ergebnisse der Gefügeuntersuchungen durch REM an Anschliffen sowie die TEM-Abbildung von Microtomschnitten belegen, daß die oktaedrischen Makrokristalle aus zahlreichen individuellen Subkristallen zusammengesetzt sind (vgl. 6.2.4). Es ist daher bemerkenswert, daß die Oktaeder dennoch eine einkristalline Struktur aufweisen, wie durch Indizierung aller Beugungsmaxima der Einkristallröntgendiffraktometrie mit einer einzigen Orientierungsmatrix belegt wurde. Demnach sind die Mineralisationsprodukte auf einer Mikroskala durch ein polykristallines Gefüge gekennzeichnet, das makroskopische Aggregat entspricht jedoch einem Einkristall.

Während im Einkristall-Beugungsbild eine deutliche azimutale Verbreiterung der Maxima zu erkennen ist (Abbildung 6.2-8), weist das Röntgenpulverdiffraktogramm der Mineralisationsprodukte scharfe Bragg-Reflexe auf (Abbildung 6.2-2). Das große Mosaik ist demnach auf Fehlorientierung kohärent streuender Bereiche innerhalb des Makrokristalls zurückzuführen. In Übereinstimmung mit den gefügekundlichen Untersuchungen kann auf das Wachstumsgefüge der oktaedrischen Mineralisationsprodukte geschlossen werden: Zahlreiche, individuelle Kristallbausteine mit nahezu idealer Struktur organisieren sich zu einer einkristallinen „Überstruktur“. Allerdings kann die kristallographische Orientierung der einzelnen Bausteine geringfügig voneinander abweichen. Möglicherweise bewirkt die Inkorporation des organischen Gelnetzwerks die nicht-perfekte Ausrichtung während der Verwachsung der konstituierenden Bausteine.

### Realstrukturanalyse

Um die Ausdehnung des Mosaiks der Beugungsmaxima zu ermitteln, wurden die Rocking-Kurven einiger Maxima untersucht. Die Untersuchung der  $\{10\bar{1}4\}$  Reflexe ergibt eine durchschnittliche azimutale Halbwertsbreite von  $4,4 \pm 1,2^\circ$ . Bemerkenswerterweise ist die Mosaik-Aufweitung für  $\{11\bar{2}0\}$  Reflexe mit  $1,9 \pm 0,4^\circ$  signifikant geringer.

Untersuchungen der azimutalen Halbwertsbreiten ( $HWB_a$ ) im zeitlichen Verlauf der Kristallisation wurden unter Verwendung einer modifizierten Versuchsanordnung zur Doppeldiffusion durchgeführt: Eine 10 mm lange und einen Millimeter dicke Glaskapillare (Innendurchmesser: 0,8 mm) wurde mit poly-AAm gefüllt, nach Doppeldiffusion von  $CaCl_2$ - und  $NaHCO_3$ -Lösung entstehen oktaedrische Calcit-Aggregate in dem Hydrogel. Das geringe Gelvolumen in der Kapillare ermöglicht zeitaufgelöste, röntgendiffraktometrische Untersuchungen der Mineralisation. Bei der Kristallisation in der Glaskapillare kann die Veränderung der  $HWB_a$  durch *in-situ* einkristalldiffraktometrische Messungen ermittelt werden. In Abbildung 6.2-10 sind die Werte der  $\{10\bar{1}4\}$  Reflexe während der Mineralisation dargestellt. Mit fortgeschrittener Versuchsdauer wächst die  $HWB_a$  logarithmisch an. Während die Werte zu Beginn der Kristallisation deutlich zunehmen, wird nach 8 Stunden ein nahezu konstantes Niveau erreicht. Nach 12 Stunden hat sich die durchschnittliche  $HWB_a$  der  $\{10\bar{1}4\}$  Reflexe etwa verzehnfacht.

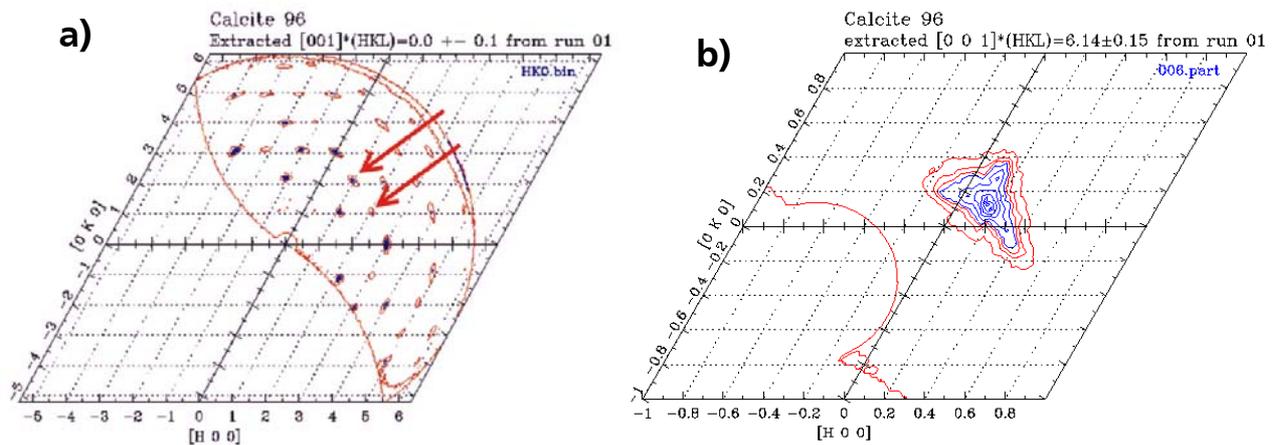


**Abbildung 6.2-10:** Entwicklung der azimutalen Halbwertsbreite im zeitlichen Verlauf der Mineralisation in poly-AAm.

Obwohl die Geometrie der *in-situ* XRD-Untersuchungen deutlich von der Standardanordnung der Doppeldiffusionsversuche abweicht, entstehen vergleichbare oktaedrische Mineralisationsprodukte. In Übereinstimmung mit der Beobachtung der ortsunabhängigen Oktaeder-Morphologie (vgl. 6.2.1), wird deutlich, daß die physikalischen Netzwerkeigenschaften der poly-AAm-Matrix die abweichenden Randbedingungen des Versuchsaufbaus überkompensieren. Die Zunahme des Mosaiks im zeitlichen Verlauf der Kristallisation beruht auf der zunehmenden Fehlorientierung der Kristallbausteine während des Oktaederwachstums. Es erscheint plausibel, daß sich die Defekte im Verlauf der Kristallisation akkumulieren: Durch fortschreitende Aggregation von Kristallbausteinen an ein bereits fehlgeordnetes Substrat nimmt das Mosaik zu. Übereinstimmend zu dieser Beobachtung ist eine Stagnation des Wachstums der Mineralisationsprodukte bei fortgeschrittener Versuchsdauer zu beobachten. Infolge Akkumulation von Fehlorientierungen bzw. Oberflächendefekten, die das Aggregatgefüge nicht mehr kompensieren kann, nimmt die Wachstumsgeschwindigkeit ab.

Um weitere Erkenntnisse über den Kristallisationsmechanismus der oktaedrischen Mineralisationsprodukte zu erlangen, wurde die Anisotropie der Einkristallbeugungsmaxima

eingehender untersucht. Mit dem Programm MPAUS wurde die dreidimensionale Ausdehnung eines Reflexes im reziproken Raum errechnet, eine zweidimensionale Projektion der Reflexintensitäten wurde mit der Software KUPLOT dargestellt. Aus den Isolinien der Intensitäten gehen die Ausdehnungen der Reflexe hervor (Abbildung 6.2-11a). In der zweidimensionalen Darstellung sind scheinbar verbotene Reflexlagen zu erkennen: Nach den allgemeinen Auswahlregeln sind beispielsweise die in Abbildung 6.2-11a markierten scheinbaren Maxima der Beugung an „(12 $\bar{3}$ 0)“ bzw. „(21 $\bar{3}$ 0)“ Netzebenen verboten [Hah95]. Tatsächlich handelt es sich bei diesen Reflexlagen um die angeschnittenen (12 $\bar{3}$ 1) bzw. (21 $\bar{3}$ 2) Reflexe. Die Schwerpunkte dieser Reflexlagen im reziproken Raum liegen unterhalb der dargestellten zweidimensionalen Schnittebene. Wegen der beträchtlichen Ausdehnung der Beugungsmaxima (Fußbreite) sind sie in der dargestellten Ebene angeschnitten. In Abbildung 6.2-11b ist ein Schnitt senkrecht dem Beugungsvektor der (0006) Netzebenen wiedergegeben. Der trigonale Umriß des Beugungsmaximums weist auf eine Anisotropie der Fehlorientierung einzelner Kristallbausteine hin.



**Abbildung 6.2-11:** a) Zweidimensionale Darstellung des reziproken Raums einer Schnittlage senkrecht der c-Achse, scheinbar verbotene Reflexe sind mit Pfeilen markiert, b) Simulierter Schnitt durch das Einkristall-Beugungsmaximum der (0006) Netzebenen, die Schnittlage ist senkrecht dem Beugungsvektor orientiert.

Der Vergleich der Rocking-Kurven der  $\{10\bar{1}4\}$  und der  $\{11\bar{2}0\}$  Maxima weist auf eine richtungsabhängige Fehlorientierung der Kristallbausteine hin. Der trigonale Umriß des Beugungsmaximums der (0006) Netzebenen belegt die anisotrope Fehlorientierung: Während eine statistische Raumorientierung der Verkippung einzelner Kristallbausteine zu einer zentrosymmetrischen Intensitätsverteilung der Beugungsmaxima führen würde, weist der trigonale Umriß auf anisotrope Verkippung der Kristallite hin. Aus der Symmetrie des Calcits ergibt sich ein trigonaler Umriß des Beugungsmaximums bei Verkippung parallel den Spiegelebenen der rhomboedrischen Subkristalle.

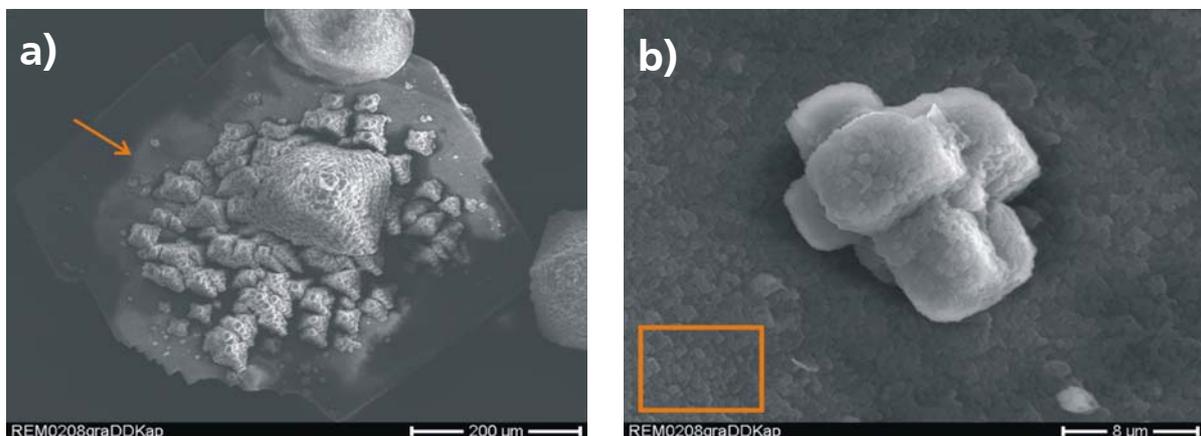
### 6.2.6 Kristallwachstum

Bei den Doppeldiffusionsversuchen in der Kapillare wurde vereinzelt die Ausbildung eines schmalen Spaltes zwischen Gelkörper und Glaswand beobachtet. In diesem Bereich kann es zu

unmittelbarer Vermischung der Mineralisationslösungen und somit zu Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  aus wässriger Lösung kommen. Die Kantenwinkel der resultierenden plattigen Calcit-Kristalle entsprechen denen des Spaltrhomboeders der Form  $\{10\bar{1}4\}$ . Im weiteren Verlauf der Doppeldiffusion wachsen, ausgehend von dieser Basisplatte, mehrere pyramidale Mineralisationsprodukte in die poly-AAm-Matrix.

In Abbildung 6.2-12a ist eine derartige Kristallvergesellschaftung, die durch Behandlung mit NaOCl von dem Gelkörper getrennt wurde, wiedergegeben. Es ist zu erkennen, daß die Aufwachsungen den oktaedrischen Mineralisationsprodukten aus dem Mittelteil des Gelkörpers ähneln: Die Pyramidenflächen setzen sich aus zahlreichen rhomboedrischen Subkristallen zusammen, deren Spitzen etwa senkrecht auf den Flächen stehen. Demzufolge entsprechen die pyramidalen Aufwachsungen einem halbierten Oktaeder. Analog zu den oktaedrischen Mineralisationsprodukten korrespondiert die Pyramidenspitze zu einer  $\{10\bar{1}4\}$  Fläche der Subkristalle. Bei Vergleich der Subkristalle mit der rhomboedrischen Basisplatte wird deutlich, daß sich die Orientierungen gleichen.

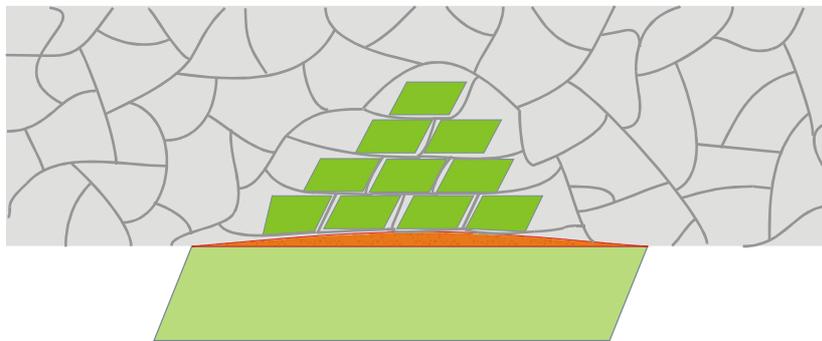
Während die Randbereiche der Basisplatte bei höherer Vergrößerung eine glatte Oberflächenstruktur aufweisen, sind in dem mittleren Bereich des Substrats zahlreiche einheitlich orientierte Rhomboeder, die eine zusammenhängende Schicht bilden, zu erkennen (markierter Bereich in Abbildung 6.2-12b). Die unterschiedlichen Grautöne der Basisplatte in Abbildung 6.2-12a sind auf die Ausdehnung dieser Oberflächenschicht zurückzuführen. Mehrere pyramidale Makrokristalle mit einheitlicher Orientierung sind der Zwischenschicht aufgewachsen. Aus der Untersuchung von Proben, die nicht in NaOCl eingelegt wurden, geht hervor, daß diese Pyramiden innerhalb des Gelkörpers kristallisiert sind. In Abbildung 6.2-12a sind mehrere Wachstumsstadien der pyramidalen Aggregate zu erkennen. Während die Pyramide in der Mitte der Kristallplatte den oktaedrischen Mineralisationsprodukten ähnelt, sind im Randbereich des Substrats frühere Wachstumsstadien zu sehen. In Abbildung 6.2-12b ist solch ein frühes Wachstumsstadium vergrößert dargestellt: Durch kreuzartige Anordnung rhomboedrischer Subkristalle wird die Orientierung der entstehenden Pyramidenflächen vorgegeben.



**Abbildung 6.2-12:** a) REM-Aufnahme pyramidalen Aggregate auf einem rhomboedrischen Calcit-Substrat, die Oberflächenschicht ist markiert, b) Detailaufnahme einer pyramidalen Aufwachsung, die in rhomboedrische Strukturen aufgelöste Oberfläche des Substrats ist hervorgehoben.

Bei Vergleich der Orientierungen der rhomboedrischen Basisplatte und der aufgewachsenen Pyramiden, ist eine einheitliche kristallographische Orientierung zu beobachten. Offensichtlich sind die pyramidalen Aggregate epitaktisch auf das Substrat aufgewachsen. Während in dem wäßrigen Milieu zwischen dem Gelkörper und der Kapillare die Kristallisation auf Flächenwachstum infolge Anlagerung atomarer Bausteine an energetisch günstige Kristallagen zurückzuführen ist [Bur51], kommt es in Kontakt mit dem poly-AAm-Hydrogel zu einem plötzlichen Wechsel des Kristallisationsmechanismus. Die Oberflächenstruktur der Pyramiden weist auf einen Kristallisationsmechanismus, analog den Verhältnissen der Oktaeder-Genese, hin. Demnach läßt die dargestellte Probe zwei grundsätzlich verschiedene Kristallisationsmechanismen in unmittelbarer Nachbarschaft erkennen.

In Abbildung 6.2-13 sind die Verhältnisse des beobachteten Wechsels der Kristallisationsmechanismen schematisch dargestellt: Der Übergang von rein atomarem Wachstum der Basisplatte zu einem Mechanismus der orientierten Verwachsung individueller Kristallbausteine wird durch eine Primerschicht eingeleitet. In Kontakt mit dem Gelnetzwerk erscheint die Oberfläche der Basisplatte in zahlreiche rhomboedrische Strukturen aufgelöst. Offenbar ist das Flächenwachstum des rhomboedrischen Substrats modifiziert. Ausgehend von heterogenen Keimkristallen auf der Basisplatte kommt es dann zu plötzlichem Wechsel des Kristallisationsmechanismus, so daß pyramidale Aggregate in das Gelvolumen hineinwachsen.



**Abbildung 6.2-13:** Schematische Darstellung der Aufwachsung pyramidaler Aggregate auf einer rhomboedrischen Basisplatte.

### ***Kristallisationsmechanismus***

Die Beobachtungen dieses Grenzflächenphänomens erlauben Rückschlüsse auf den allgemeinen Wachstumsmechanismus in poly-AAm. Während in wäßrigen Lösungen die  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen des Calcits die vergleichsweise geringste Verschiebungsgeschwindigkeit aufweisen, kommt es in Kontakt mit der poly-AAm-Matrix zu einer sprunghaften Zunahme der Verschiebungsgeschwindigkeit. Infolge des bevorzugten Wachstums der  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen bildet sich eine aufgewölbte Zwischenschicht. In Abbildung 6.2-12b ist zu erkennen, daß die Morphologie der pyramidalen Aufwachsungen auf eine kreuzartige Anordnung der einzelner Bausteine, die den Subkristallen der oktaedrischen Makrokristalle entsprechen, zurückzuführen ist. Offenbar basiert der Kristallisationsmechanismus in einer poly-AAm-Matrix auf der

bevorzugten Anlagerung rhomboedrischer Kristallbausteine auf den  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen eines Keimkristalls.

Analoge geometrische Überlegungen bestätigen, daß die oktaedrischen Aggregate aus der Mitte des Gelvolumens durch Anordnung kleiner Rhomboeder auf einer größeren, unterliegenden Rhomboederfläche konstruiert werden können. Demnach entsteht eine Pseudo-Oktaederform, wenn die Rhomboederflächen die größte Wachstumsgeschwindigkeit aufweisen, so daß sie im Verlauf des Kristallwachstums verschwinden und ein verzerrtes Oktaeder („Anti-Rhomboeder“) entsteht. Gemäß einer allgemeinen geometrischen Betrachtung, läßt sich ein Würfel jedoch nur durch fraktale Aggregation kubischer Bausteine in ein Oktaeder überführen [Ste97]. Übereinstimmend dazu ist eine selbstähnliche Subkristallgrößenverteilung auf der Oberfläche der oktaedrischen Mineralisationsprodukte zu beobachten (vgl. **6.2.1**). Diese Betrachtungen kennzeichnen einen spezifischen Kristallisationsmechanismus der Calcit-Oktaeder.

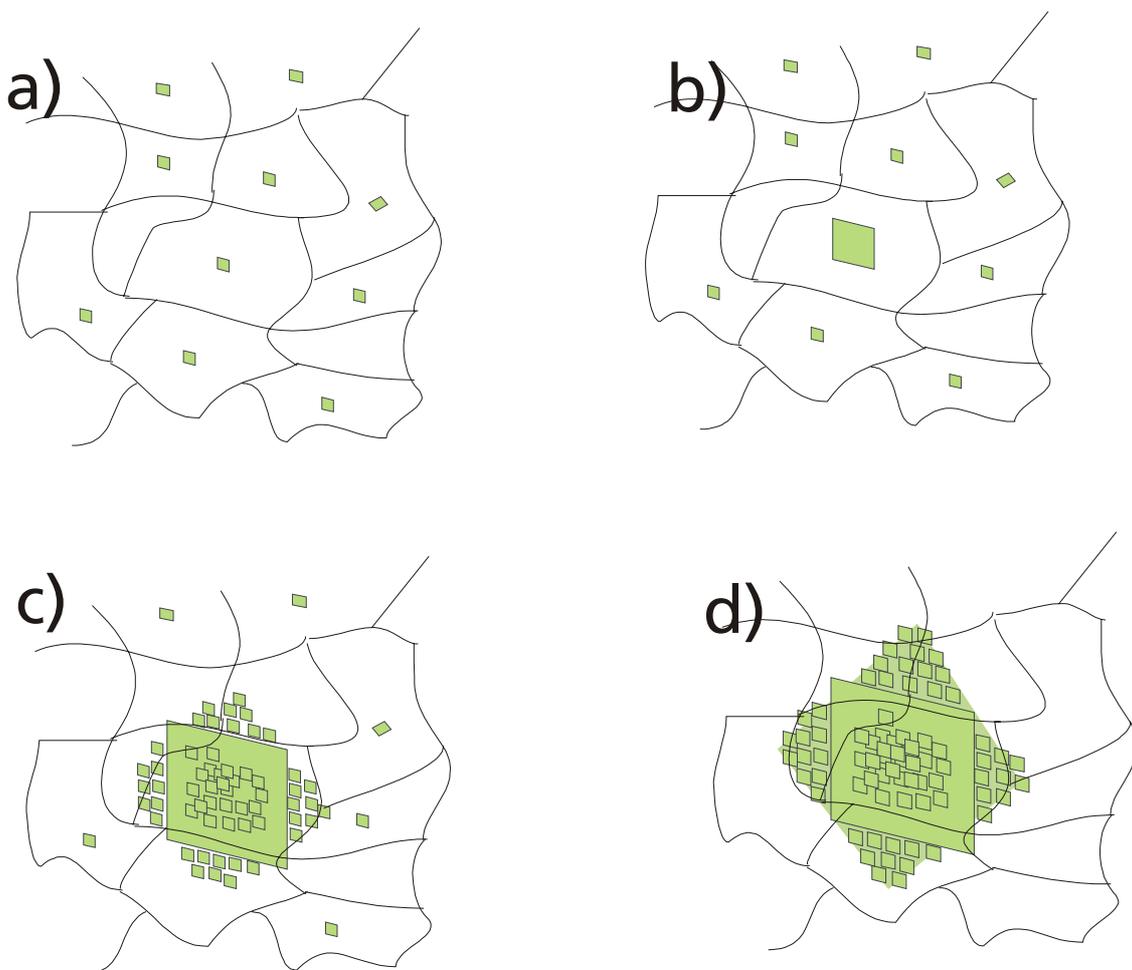
Klassische Berechnungen des Kristallwachstums basieren auf der Adsorption atomar-ionischer Einheiten auf der wachsenden Kristallfläche [Kos27, Str28] und der folgenden Diffusion zu energetisch günstigen Positionen [Bur51]. Voraussetzung dieses lagenweisen Wachstumsmechanismus ist eine hinreichende Mobilität der Wachstumseinheiten in dem Kristallisationsmedium sowie auf der wachsenden Kristallfläche. Entgegen dieser klassischen Theorie konnte bei der Biomineralisation natürlicher Eisenhydroxyde Selbstorganisation nanokristalliner Partikel beobachtet werden [Ban00]. Die Kristallbausteine sind zu groß, um auf der Oberfläche des wachsenden Kristalls zu diffundieren, so daß der Wachstumsprozeß auf Aggregation vorgeformter Wachstumseinheiten basiert. Der Aggregation nanokristalliner Partikel geht die Rotation der einzelnen Kristallbausteine voraus, was eine orientierte Aggregation ermöglicht [Ali00]. In Anlehnung an diese Phänomene kann ein Aggregationswachstumsmodell des  $\text{CaCO}_3$  in poly-AAm beschrieben werden.

In Gelnetzwerken kann es aufgrund des unterdrückten konvektiven Materialtransportes zu Kristallisation unter hohen Übersättigungen kommen [Put95]. Bei hohen Übersättigungen ist die Aktivierungsenergie der Keimbildung verringert, so daß die Keimbildungsrate vergleichsweise hoch ist [Kle90]. Demzufolge befinden sich in einem Gelnetzwerk deutlich mehr homogene Keime (Cluster) als in verdünnten wäßrigen Lösungen. Allerdings werden nur sehr wenige dieser Cluster als überkritische Keime zu makroskopischen Aggregaten auswachsen. Es ist daher anzunehmen, daß im Verlauf der Doppeldiffusion in einem poly-AAm-Gelkörper zahlreiche, nahgeordnete Wachstumseinheiten sowie wenige Keimbildungszentren entstehen. Da es sich nicht um Wachstumseinheiten atomarer Größe handelt, ist die Diffusion auf einer wachsenden Kristallfläche eingeschränkt. Außerdem ist davon auszugehen, daß diese nahgeordneten Einheiten in dem kovalent vernetzten Hydrogel immobilisiert sind. Demzufolge ist die Volumendiffusion der Kristallbausteine zu dem wachsenden Aggregat gehemmt.

Für das Wachstum der oktaedrischen Mineralisationsprodukte läßt sich das folgende Aggregatwachstumsmodell postulieren (Abbildung 6.2-14): In dem Gelvolumen bilden sich sehr viele Cluster, die jedoch nicht alle zu Makrokristallen auswachsen (**a**). Im Verlauf der

Doppeldiffusion steigen die Konzentrationen und die Übersättigung weiter, bis im Gelvolumen an einzelnen Stellen überkritische Keime auftreten (**b**), die weiter atomar wachsen können. Treffen die wachsenden Kristallflächen nun auf vorgeformte Cluster, lagern sich diese an den wachsenden Kristall an. Wenn die aggregierenden Cluster klein genug sind, kommt es zu Rotation und paralleler Ausrichtung der nahgeordneten Cluster mit der Oberfläche des wachsenden Aggregates (**c**). Das Gesamtwachstum (**d**) wird sowohl durch diese Aggregation als auch durch atomares Wachstum aller Kristallflächen bestimmt [Gra03a].

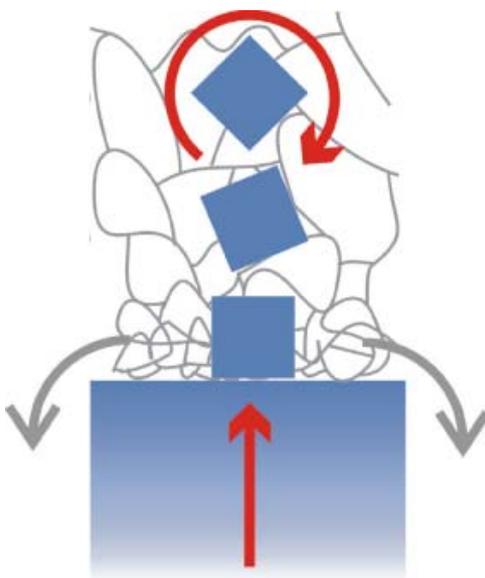
Die Entstehung makroskopischer Oktaeder setzt ein dynamisches Gleichgewicht des atomaren Flächenwachstums (Entstehung von  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen) und der Aggregation vorgeformter Einheiten (Wachstum der Oktaederflächen) voraus. Die Cluster-Aggregation erfolgt vorzugsweise an den wachsenden Rhomboederflächen der überkritischen Keime, da somit der größte Gewinn an Oberflächenenergie erzielt wird. Aufgrund der Größe der aggregierenden Bausteine ist die Oberflächendiffusion zu energetisch günstigen Wachstumsplätzen eingeschränkt.



**Abbildung 6.2-14:** Schematische Darstellung des für die Mineralisation in poly-Acrylamid postulierten Aggregationsbasierten Wachstumsmechanismus der Calcit-Oktaeder: **a)** homogene Keimbildung, **b)** wachsender Keim, **c)** Aggregation, **d)** resultierendes Oktaeder.

Ein grundsätzliches Prinzip dieses Wachstumsprozesses ist die orientierte Aggregation vorgeformter Wachstumseinheiten auf einem rhomboedrischen Keimkristall. Offensichtlich ist es notwendig, daß naheordnete Cluster im Bereich der Aggregat-Grenzfläche rotieren. Derartige Prozesse dürften durch den Gewinn an Oberflächenenergie, der sich aus der strukturellen Übereinstimmung von Substrat und aggregierendem Partikel ergibt, angetrieben sein. Da die Reichweite dieser Wechselwirkung nur sehr gering sein sollte, ist davon auszugehen, daß sich die aggregierenden Cluster in Nachbarschaft der wachsenden Mineralisationsprodukte vororientieren. Es wurde nachgewiesen, daß der Gehalt des in die Oktaeder eingewachsenen Hydrogels deutlich unter dem theoretischem Wert bei volumenkonformer Inkorporation liegt. Demzufolge wird ein kompakterer Gelbereich, der für ein 200 µm großes Mineralisationsprodukt etwa 4 µm dick ist, den wachsenden Makrokristall umgeben (vgl. **6.2.2**).

Basierend auf diesen Ergebnissen läßt sich ein Vororientierungsprozeß der aggregierenden Wachstumspakete in Nachbarschaft zu der Grenzfläche des wachsenden Aggregats postulieren (Abbildung 6.2-15): Es erscheint plausibel, daß die Verdrängung des Hydrogel-Netzwerks durch das wachsende Aggregat zu einer Abflachung der Poren des poly-AAm führt. Diese anisotropen Poren werden sich parallel der Wachstumsfront ausrichten und somit eine Vororientierung der aggregierenden Wachstumspakete ermöglichen. Bei fortgeschrittener Aggregation dürfte der kompaktierte Gelbereich den wachsenden Makrokristall, vergleichbar einer Bugwelle, umfließen. Infolge dieser geringfügigen Relativbewegung wird die Einregelung der vorgeformten Wachstumseinheiten in Nachbarschaft des wachsenden Aggregats begünstigt. Da der kompaktierte Gelbereich weniger als 4 µm dick ist, läßt sich die lokale Anisotropie des Hydrogels nicht mit einem Polarisationsmikroskop nachweisen. Der vorgeschlagene Vororientierungsprozeß stellt daher lediglich ein theoretisches Modell dar, daß sich mit den Beobachtungen des Aggregatwachstums und des Kompositcharakters deckt. In unmittelbarer Nähe zu dem Substrat werden die vororientierten Cluster epitaktisch mit dem wachsenden Aggregat verwachsen.



**Abbildung 6.2-15:** Schematische Darstellung der Vororientierung naheordneter Cluster infolge des Dichtegradienten in Nachbarschaft zu der Grenzfläche eines wachsenden oktaedrischen Aggregats.

### 6.2.7 Zusammenfassung

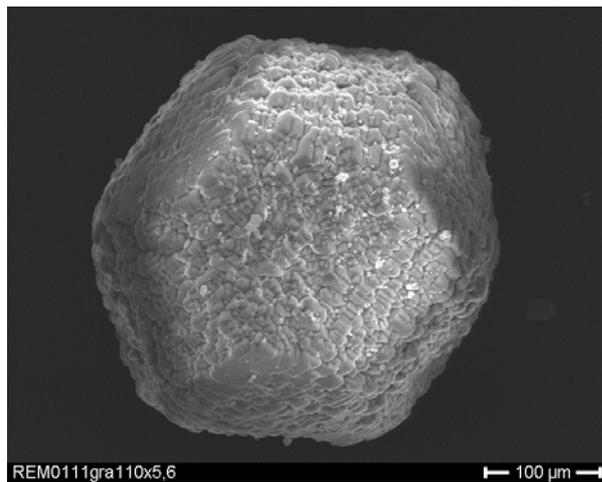
Bei der Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  in poly-Acrylamid entstehen im gesamten Gelvolumen Calcit-Aggregate mit ungewöhnlicher oktaedrischer Morphologie. Die Oktaeder setzen sich aus zahlreichen rhomboedrischen Subkristallen mit selbstähnlicher Größenverteilung zusammen. Im TEM ist zu erkennen, daß die Aggregate aus individuellen Kristalliten mit der gleichen kristallographischen Orientierung bestehen. Die Auswertung der Einkristallröntgendiffraktometrie belegt eine einkristalline Struktur. Die Halbwertsbreiten der Beugungsmaxima weisen auf eine Mosaikstruktur der Mineralisationsprodukte hin. Infolge der Fehlorientierung einzelner Bausteine während des Kristallwachstums nimmt die azimutale Halbwertsbreite der Röntgenreflexe zu. Die hohen Übersättigungen in dem poly-AAm-Netzwerk führen zu einem spezifischen Kristallisationsmechanismus: Die simultane orientierte Verwachsung vorgeformter Wachstumseinheiten sowie das Flächenwachstum dieser Bausteine führt zu der beobachteten Form eines Anti-Rhomboeders.

## 6.3 Mineralisation in Sulfonat-funktionalisierten Copolymeren

Mineralisationsexperimente mit Sulfonat-funktionalisierten poly-Acrylamid-Hydrogelen (poly-AAm-AMPS) wurden durchgeführt, um den Effekt polarer funktioneller Gruppen auf die Materialabscheidung zu untersuchen.

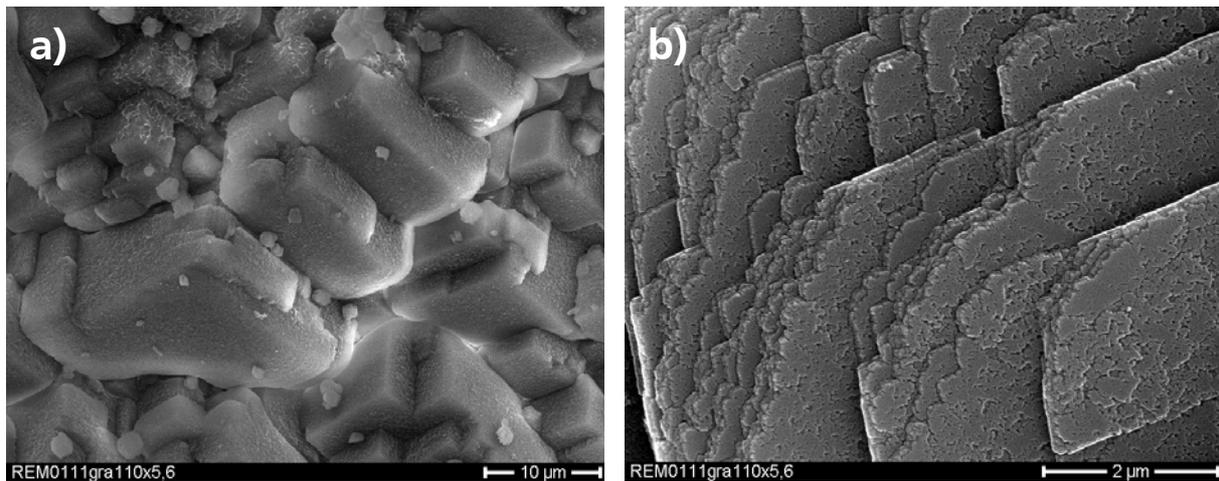
### 6.3.1 Mineralisationsprodukte

Die Mineralisationsprodukte aus einem Sulfonat-funktionalisierten Hydrogel auf poly-Acrylamid Basis weisen deutliche Gemeinsamkeiten mit den Produkten der unfunktionalisierten Gele auf (vgl. 6.2.1). Allerdings ist die Größe und auch die morphologische Ausgestaltung der Kristallaggregate von dem Ort der Mineralisation innerhalb des Copolymerkörpers abhängig (vgl. 6.3.4 und 6.3.5). Ein typisches Mineralisationsprodukt aus dem mittleren Teil des Gelkörpers ist in Abbildung 6.3-1 dargestellt (eine Woche Versuchsdauer). Analog zu den Verhältnissen in reinem poly-AAm ergeben einkristalldiffraktometrische Untersuchungen eine fehlgeordnete einkristalline Struktur der Calcit-Aggregate.



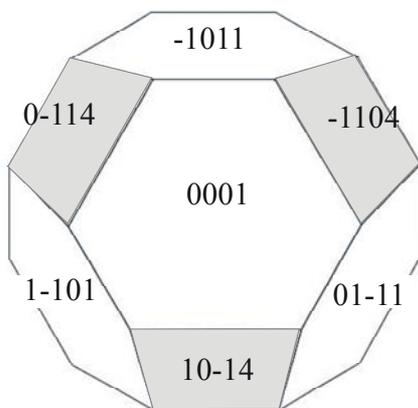
**Abbildung 6.3-1:** REM-Aufnahme eines typischen Mineralisationsprodukts aus poly-AAm-AMPS nach einer Woche Versuchsdauer.

Die Oberfläche der isometrischen Makrokristalle setzt sich aus zahlreichen rhomboedrischen Untereinheiten zusammen. Es sind zwei unterschiedliche Orientierungen der Rhomboeder auf den Flächen der polyedrischen Makrokristalle zu unterscheiden: Während, analog zu den Aggregaten aus poly-AAm, auf einigen Flächen der Mineralisationsprodukte die Spitzen der Subkristalle zu erkennen sind (Abbildung 6.3-2a), weist ein zweiter Flächensatz abgestufte Kristallflächen auf. Bei höherer Vergrößerung wurden die für die  $\{10\bar{1}4\}$  Form charakteristischen Kantenwinkel von  $104^\circ$  bzw.  $76^\circ$  gemessen (Abbildung 6.3-2b). Demnach kann dieser Flächensatz durch die Millerindizes  $\{10\bar{1}4\}$  beschrieben werden. Für den anderen Flächensatz ergibt sich, in Anlehnung an die Indizierung der Mineralisationsprodukte des poly-AAm, die Formenkombination  $\{0001\}$  und  $\{01\bar{1}1\}$ .



**Abbildung 6.3-2:** REM-Aufnahme der Oberfläche der Mineralisationsprodukte aus poly-AAm-AMPS: **a)** Orientierung der Subkristalle auf  $\{0001\}$  und  $\{01\bar{1}1\}$  Flächen, **b)** Rhomboederflächen des Calcits.

Die theoretische Morphologie eines Körpers mit der Formenkombination  $\{0001\}$ ,  $\{01\bar{1}1\}$  und  $\{10\bar{1}4\}$  wurde mit der Software JCRYSTAL [Jcr00] dargestellt (Abbildung 6.3-3). Die deutliche Übereinstimmung von Simulation und REM-Aufnahme (Abbildung 6.3-1) bestätigt die ermittelten Millerindices. Aus Abbildung 6.3-3 ergibt sich, daß in Vergleich zu den Mineralisationsprodukten aus poly-AAm die Oktaederspitzen durch die  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen abgeflacht sind. In Anlehnung an die kubische Beschreibung der Mineralisationsprodukte des unfunktionalisierten poly-AAm entspricht dieser abgeflachte Oktaeder einem Kuboktaeder.

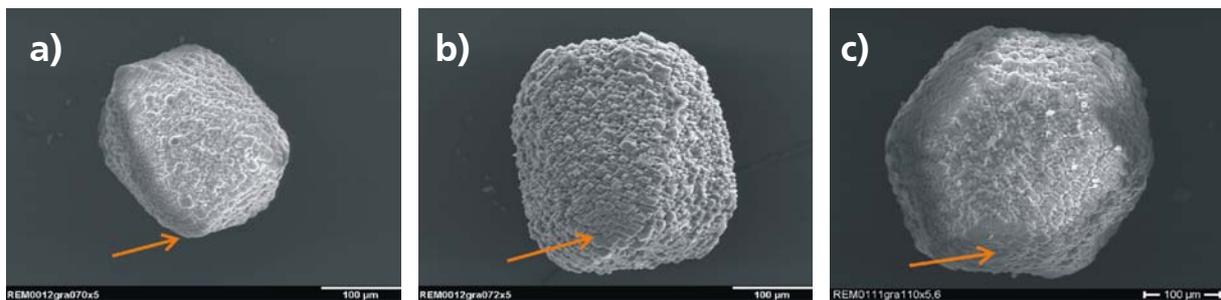


**Abbildung 6.3-3:** Schematische Darstellung der pseudo-kuboktaedrischen Morphologie der Mineralisationsprodukte aus poly-AAm-AMPS, die Rhomboederflächen sind grau dargestellt.

Trotz der Funktionalisierung der Gelmatrix, unterscheiden sich die Mineralisationsprodukte der poly-AAm-AMPS-Copolymere nicht grundsätzlich von den Calcit-Oktaedern aus reinem poly-AAm. Die stark polaren Sulfonatgruppen führen zu keiner wesentlichen Veränderung des Kristallisationsmechanismus in dem Copolymer. Offenbar überwiegt der physikalische Netzwerkeffekt des Polymers gegenüber der Wirkungsweise der Funktionalisierung. Analog zu der Mineralisation in poly-AAm, kommt es zu Aggregation vorgeformter Wachstumseinheiten, die sich zu einer makroskopisch einkristallinen „Überstruktur“ organisieren. Die polaren Gruppen in dem Netzwerk bewirken lediglich eine Modifikation der Morphogenese, so daß die Produkte im Mittelteil des Gelkörper einem Kuboktaeder entsprechen [Gra03b].

### 6.3.2 Gehalt an funktionellem Monomer

Um den Übergang der Morphogenese von unfunktionalisiertem poly-AAm zu dem standardmäßig verwendeten poly-AAm-AMPS zu untersuchen, wurden Aggregate aus Sulfonat-funktionalisierten Copolymeren mit unterschiedlichem Gehalt funktioneller Monomere verglichen. In Abbildung 6.3-4 sind die Mineralisationsprodukte aus dem Mittelteil des Gelkörpers von poly-AAm-AMPS-Copolymeren mit 1, 5 und 10 Mol-% AMPS dargestellt. Während die Produkte aus einem Copolymer mit nur einem Mol-% den Oktaedern des unfunktionalisierten poly-AAm sehr ähnlich sind, sind die Oktaederspitzen der Aggregate aus 5 und 10 prozentigen Copolymeren zunehmend abgeflacht. In einem Sulfonat-funktionalisierten Copolymer mit 10 Mol-% AMPS Monomer kristallisieren kuboktaedrische Aggregate.



**Abbildung 6.3-4:** REM-Aufnahmen der Calcit-Aggregate aus poly-AAm-AMPS mit zunehmendem Anteil Sulfonat-haltigen Monomers: **a)** 1 Mol-%, **b)** 5 Mol-%, **c)** 10 Mol-%; Pfeile Kennzeichnen die abgeflachten Oktaederspitzen.

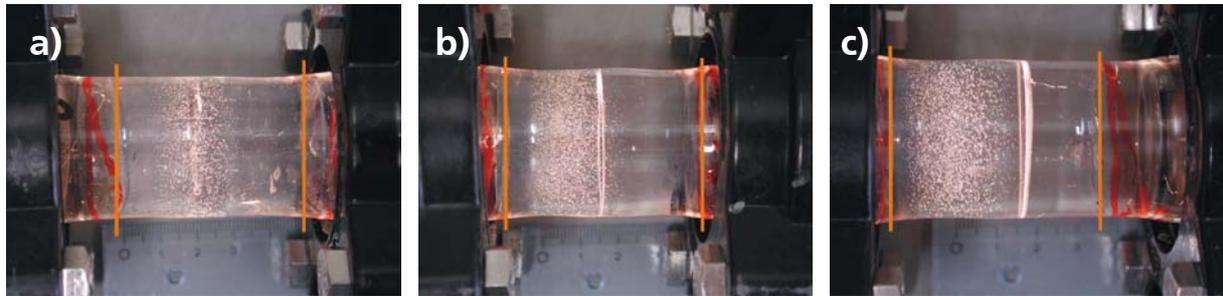
Der Übergang von der oktaedrischen Morphologie der Mineralisationsprodukte des unfunktionalisierten poly-AAm zu der kuboktaedrischen Form eines typischen Aggregats aus poly-AAm-AMPS mit 10 Mol-% Sulfonat-haltigem Monomer ist stetig. Offensichtlich hängt der Flächenanteil der  $\{10\bar{1}4\}$  Form, d.h. die Abflachung der Oktaederspitzen, von dem Sulfonatgruppen-Gehalt des Netzwerks ab. Somit läßt sich die Morphologie der Mineralisationsprodukte durch den AMPS-Gehalt des Syntheseansatzes steuern.

### 6.3.3 Netzwerktopographie

Da die Funktionalisierung eines poly-AAm-Netzwerks mit stark polaren Sulfonatgruppen die Mineralisation nicht grundsätzlich verändert, wurde zusätzlich der Effekt der räumlichen Anordnung funktioneller Gruppen in der Copolymermatrix untersucht. Die Anordnung funktioneller Sulfonatgruppen innerhalb des Copolymernetzwerks (Netzwerktopographie) läßt sich durch Variation der Hydrogelsynthese einstellen (vgl. **5.1**). Die Morphologie der Mineralisationsprodukte aus „statistisch“, „Block“- und „Cluster“-copolymerisierten Hydrogelen ist ähnlich. Der Ort der Kristallisation innerhalb des Gelkörpers sowie der zeitliche Verlauf der Materialabscheidung sind jedoch von der räumlichen Anordnung der funktionellen Gruppen abhängig.

In Abbildung 6.3-5 sind Photos der Doppeldiffusionsanordnung nach einer Woche Versuchsdauer wiedergegeben. Mineralisationsdichte und Lage der Kristalle in dem Gelvolumen der drei Copolymere sind unterschiedlich. In einem „statistisch“ copolymerisierten Hydrogel finden sich die Mineralisationsprodukte in der Mitte des Gelkörpers. Demgegenüber führt die

räumliche Bündelung der funktionellen Gruppen in „Block“- bzw. „Cluster“-copolymerisierten Hydrogelen zu bevorzugter Materialabscheidung auf der  $\text{CaCl}_2$ -Seite der Doppeldiffusionsanordnung, die Mineralisationsdichte ist vergleichsweise hoch.

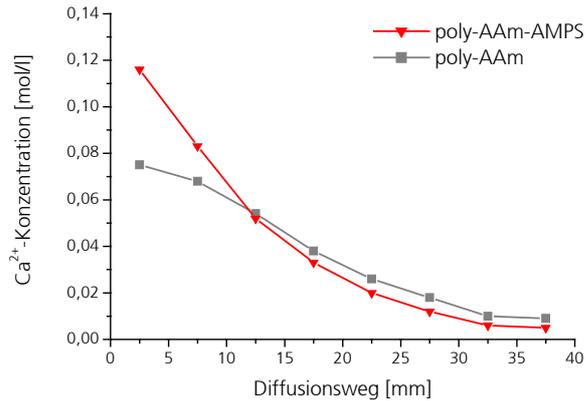


**Abbildung 6.3-5:** Photos der Mittelstücke der Doppeldiffusionsanordnung:  $\text{CaCl}_2$ -Lösung diffundiert von links,  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung von rechts; der scharfe Streifen in der Mitte ist Folge der Herstellung des Glasrohrs; **a)** „statistisch“, **b)** „Block“-, **c)** „Cluster“- copolymerisiert; die Grenzfläche Gel-Lösung ist markiert (Maßstab in cm).

Durch Variation der räumlichen Anordnung funktioneller Sulfonatgruppen ist der Kristallisationsmechanismus in dem Copolymernetzwerk weitgehend unbeeinflusst. Die lokale Akkumulation negativer Ladungsträger wird durch den netzwerkspezifischen Wachstumsmechanismus makroskopisch einkristalliner Aggregate überkompensiert. Demgegenüber kennzeichnet die Variation des ortsabhängigen Verlaufs der Materialabscheidung eine Modifikation der lokalen Übersättigungsverhältnisse in dem Gelkörper.

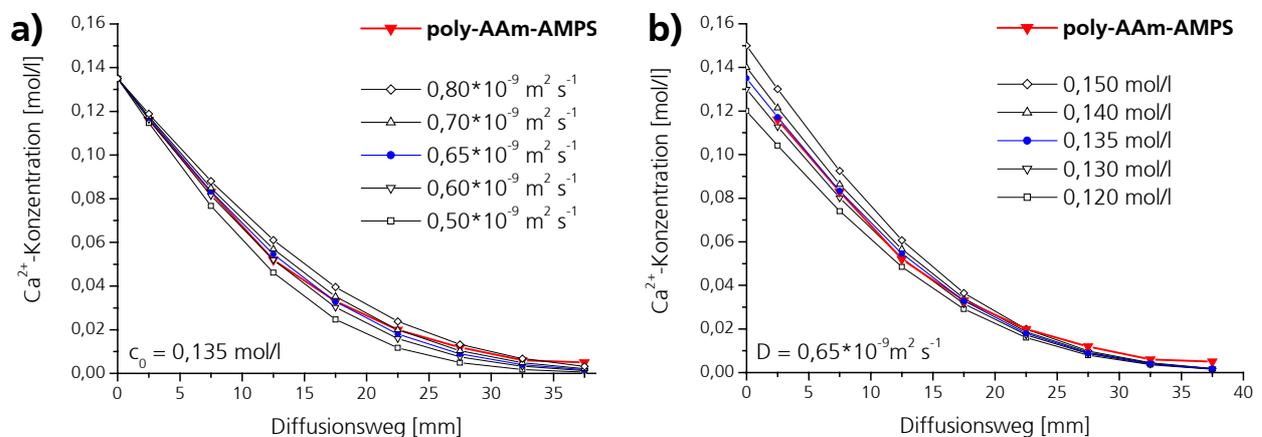
#### 6.3.4 Ortsaufgelöste Untersuchungen

Um den Einfluß der Gelmatrix auf die lokalen Verhältnisse der Mineralisation näher zu untersuchen, wurde die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration verschiedener Segmente der Gelkörper nach 48 Stunden Versuchsdauer ermittelt. Es hat sich als zweckmäßig erwiesen, die Konzentrationsverhältnisse durch eine Einfachdiffusionsanordnung anzunähern (vgl. **6.6.1**). In Abbildung 6.3-6 ist die ortsaufgelöste  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration eines poly-AAm-Hydrogels dem Konzentrationsprofil in einem poly-AAm-AMPS-Gelkörper („statistisch“ copolymerisiert) gegenübergestellt. Die Kurve des unfunktionalisierten Gels weist einen sigmoidalen Verlauf auf. Demgegenüber nehmen die Werte in poly-AAm-AMPS, ausgehend von der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung, exponentiell ab. In einem Bereich nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung sind die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen des Copolymerkörpers größer als die Ausgangskonzentration des Überstands (0,1 mol/l). Etwa 12 mm von der Gel-Lösung-Grenzfläche entfernt schneiden sich die Konzentrationsverläufe von poly-AAm und Copolymer. Während der  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt des poly-AAm-AMPS in einem Bereich nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung deutlich höher ist als in poly-AAm, liegen die Werte im mittleren Bereich des Gelkörpers unterhalb der Kurve des unfunktionalisierten Gels.



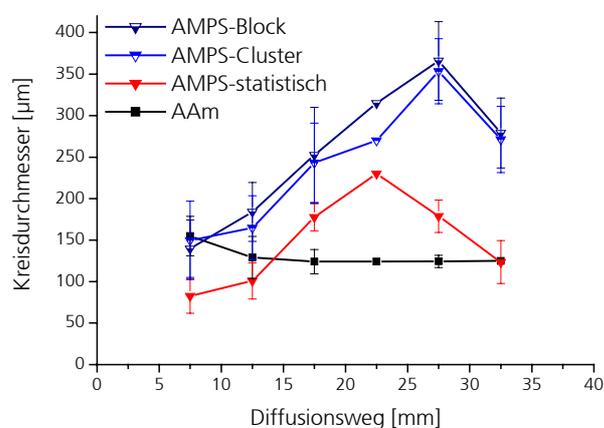
**Abbildung 6.3-6:**  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsprofile in poly-AAm und „statistisch“ copolymerisiertem poly-AAm-AMPS nach 48 Stunden Versuchsdauer in Einfachdiffusionsanordnung.

Das sigmoidale Konzentrationsprofil in poly-AAm ist auf die Konzentrationsabnahme des (endlichen) Überstands bei fortgeschrittener Versuchsdauer zurückzuführen. Es ist daher nicht möglich, die Diffusionsverhältnisse durch analytische Funktionen zu beschreiben [Pri90]. Das exponentielle Profil in poly-AAm-AMPS läßt sich hingegen durch eine analytische Lösung des zweiten Fick'schen Gesetzes (Gleichung 2-4, Kapitel **2.3**) annähern. In Abbildung 6.3-7a sind die berechneten Profile für unterschiedliche Diffusionskoeffizienten dem experimentellen Konzentrationsprofil gegenübergestellt. Für einen Diffusionskoeffizienten von  $0,65 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  stimmen das berechnete und das experimentelle Profil weitgehend überein. Die geringen Abweichungen sind auf die nicht-idealen Versuchsbedingungen zurückzuführen. Mit einem Diffusionskoeffizienten von  $0,65 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  läßt sich die Konzentration an der Grenzfläche des Gelkörpers zu der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung (*Sättigungskonzentration*) abschätzen (Abbildung 6.3-7b). Demnach ergibt sich für das experimentelle Konzentrationsprofil eine Sättigungskonzentration von  $0,135 \text{ mol/l}$ . Die deutliche Anreicherung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Kationen, im Verhältnis zu der Ausgangskonzentration der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung, ist auf die ausgeprägte Affinität der Sulfonatgruppen zu Ionen mit hohem Ionenpotential (Verwendung als Kationenaustauscher [She84]) zurückzuführen: Die Wahrscheinlichkeit, daß ein Kation zurück in den Überstand diffundiert ist geringer, als daß ein Kation aus dem Überstand in den Gelkörper diffundiert.



**Abbildung 6.3-7: a)**  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsprofil in „statistisch“ copolymerisiertem poly-AAm-AMPS nach 48 Stunden Versuchsdauer und theoretische Verläufe für unterschiedliche Diffusionskoeffizienten ( $c_0 = \text{Sättigungskonzentration}$ )  
**b)**  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsprofil in poly-AAm-AMPS und simulierte Kurven für unterschiedliche Sättigungskonzentrationen bei einheitlichem Diffusionskoeffizienten ( $D$ ).

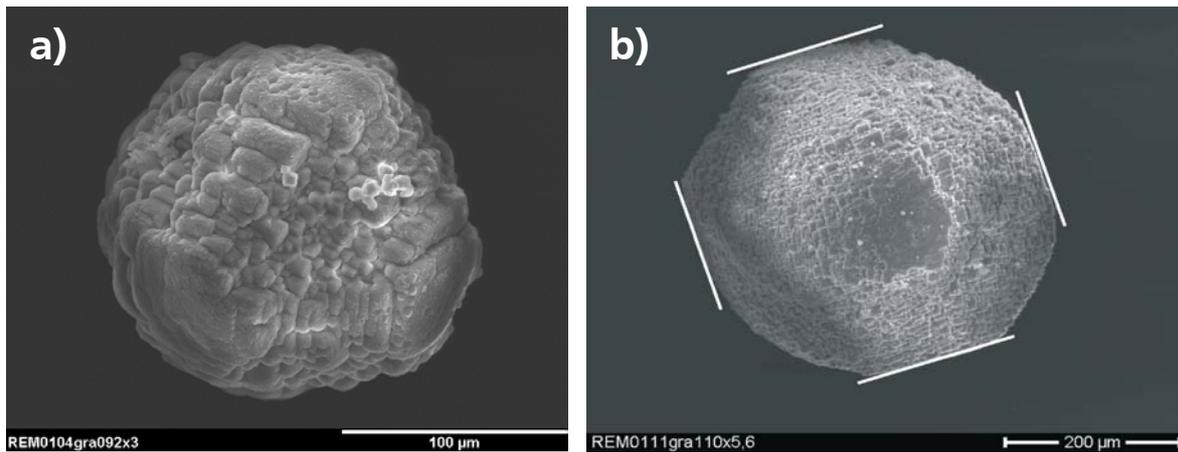
Die lokalen Konzentrationsverhältnisse spiegeln sich in der Größe der Mineralisationsprodukte nach einer Woche Doppeldiffusion wieder. Die Größe der Produkte (angenähert als Kreisdurchmesser) aus Sulfonat-funktionalisierten Copolymeren und aus poly-AAM wurde mit einem Bildanalyzesystem ermittelt (Abbildung 6.3-8). Während der Kreisdurchmesser der Aggregate des unfunktionalisierten Hydrogels im gesamten Gelvolumen etwa konstant ist (100 - 180  $\mu\text{m}$ ), sind die Werte der poly-AAM-AMPS-Copolymere ortsabhängig. Die Durchmesser der Mineralisationsprodukte des „statistisch“ copolymerisierten Gels sind vergleichsweise gering (50 - 250  $\mu\text{m}$ ) und weisen in der Mitte des Gelkörpers den größten Wert auf. Räumliche Bündelung der funktionellen Gruppen in dem Copolymer-Netzwerk („Block“- und „Cluster“-Copolymerisation) führt demgegenüber zu größeren Aggregaten (100 - 400  $\mu\text{m}$ ), wobei die Werte in Richtung der  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung deutlich zunehmen.



**Abbildung 6.3-8:** Bildanalytisch ermittelte Kreisdurchmesser der Mineralisationsprodukte aus poly-Acrylamid und aus poly-AAM-AMPS mit unterschiedlicher Netzwerktopographie.

Offenbar führt in poly-AAM-AMPS-Copolymeren die  $\text{Ca}^{2+}$ -Anreicherung in Bereichen nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung zu großen Übersättigungen und somit zu verhältnismäßig hohen Keimbildungsraten. Da die wachsenden Kristalle miteinander konkurrieren, erreichen diese lediglich geringe Durchmesser. Demgegenüber sind die Übersättigungen im mittleren Bereich moderat, so daß wenige Produkte mit verhältnismäßig großem Durchmesser entstehen. Besonders ausgeprägt sind die lokal unterschiedlichen Aggregatdurchmesser in „Block“- bzw. „Cluster“-copolymerisierten Hydrogelen. Dies ist ein Hinweis auf effektive Immobilisierung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Kationen durch quervernetzte Sulfonatgruppen. Dadurch ist die Keimbildung in „Block“- und „Cluster“-copolymerisierten Matrices begünstigt.

Die ortsabhängigen Durchmesser korrespondieren mit der lokalen Morphologie der Mineralisationsprodukte. In Abbildung 6.3-9 sind REM-Aufnahmen der Aggregate aus unterschiedlichen Bereichen eines „statistisch“ copolymerisierten poly-AAM-AMPS Gelkörpers dargestellt. Produkte aus einer 5 bis 10 mm von der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung entfernten Zone weisen etwa 120  $\mu\text{m}$  Durchmesser auf. Die Aggregate setzen sich aus verhältnismäßig großen Subkristallen zusammen, resultierend in einer groben Oberflächenstruktur. Die Erscheinungsform der Aggregate ist von kuppelartig gewölbten  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen dominiert (Abbildung 6.3-9a). Mineralisationsprodukte aus der Mitte der Gelkörper sind etwa doppelt so groß. Die  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen der Aggregate treten weniger deutlich hervor. Dennoch läßt der isometrische Habitus die Spaltrhomboederform des Calcits erkennen (Markierung in Abbildung 6.3-9b).



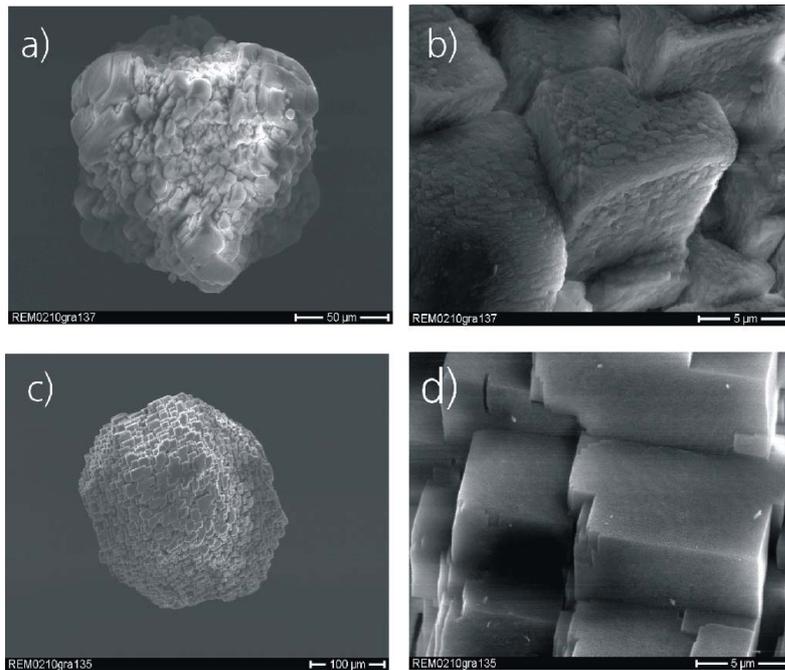
**Abbildung 6.3-9:** a) Mineralisationsprodukte aus poly-AAm-AMPS nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung, b) Produkt aus einem mittleren Bereich des Gelkörpers, die Spaltrhomboiderform ist markiert.

Obwohl der Kristallisationsmechanismus wesentlich durch die physikalische Netzwerkstruktur des Hydrogels bedingt ist (vgl. 6.2.6), wird die morphologische Ausgestaltung der Mineralisationsprodukte von den lokalen Übersättigungsverhältnissen überprägt. Der steile  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsgradient in poly-AAm-AMPS-Copolymeren führt zu der ortsabhängigen Morphologie der Mineralisationsprodukte. Der Zusammenhang zwischen der physikalischen Netzwerkstruktur und dem lokalen chemischen Milieu wird durch Vergleich der ortsabhängigen Mineralisationsprodukte des poly-AAm-AMPS mit Produkten aus poly-AAm mit unterschiedlicher Netzwerkstruktur deutlich.

### 6.3.5 Vergleich mit poly-Acrylamid

In porösen Systemen ist der Grad der Übersättigung eine Funktion der Kompartimentgröße des Kristallisationsorts [Hal69, Hen88]. Da sich die Maschenweite von poly-AAm aus dem Feststoffgehalt des Polymers ergibt [Whi60], wurden vergleichende Mineralisationsversuche in poly-AAm-Hydrogelen mit unterschiedlichem Monomer-Gehalt des Syntheseansatzes durchgeführt.

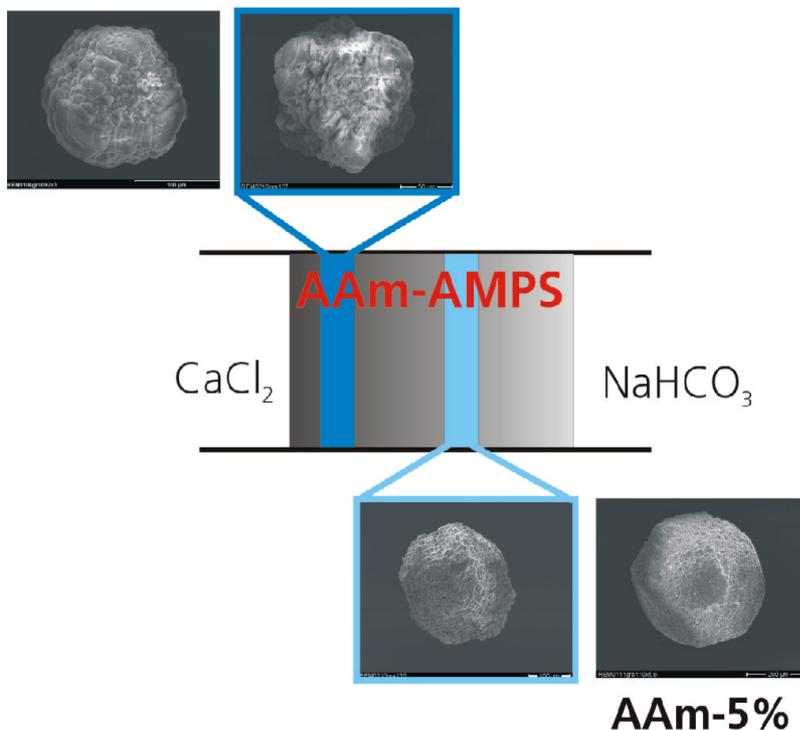
In Abbildung 6.3-10a ist ein Aggregat aus einem poly-AAm-Netzwerk mit 20% Feststoffgehalt (poly-AAm-20) dargestellt. Im Gegensatz zu den Verhältnissen der poly-AAm-AMPS-Hydrogele ist eine derartige Morphologie in dem gesamten Gelkörper zu beobachten. Die Aggregate sind etwa 100  $\mu\text{m}$  groß. Die Erscheinungsform wird, analog der Kristallisation in poly-AAm-AMPS-Copolymeren nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung (Abbildung 6.3-9a), von kuppelartigen  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen dominiert. Bei höherer Vergrößerung ist eine raue Oberfläche der Subkristalle zu erkennen (Abbildung 6.3-10b). Demgegenüber weisen die Mineralisationsprodukte aus poly-AAm mit 5% Feststoffgehalt (poly-AAm-5) glatte Flächen der Subkristalle auf (Abbildung 6.3-10c). Die Morphologie des Makrokristalls ähnelt der eines Aggregats aus dem Mittelteil eines poly-AAm-AMPS-Gels (Abbildung 6.3-9b). Die  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen des Makrokristalls sind deutlich zu erkennen und weisen im Gegensatz zu den kuppelartigen Flächen der Mineralisationsprodukte des poly-AAm-20 Gemeinsamkeiten mit der rhomboedrischen Gleichgewichtsform des Calcits auf. Die knapp 300  $\mu\text{m}$  großen Aggregate sind im gesamten Gelvolumen nachweisbar.



**Abbildung 6.3-10:** a) Produkt aus einem poly-AAm-Hydrogel mit 20% Feststoffgehalt, b) Oberfläche des Produkts aus poly-AAm-20, c) REM-Aufnahme eines Aggregats aus poly-AAm-Hydrogel mit 5% Feststoffgehalt, d) Detailaufnahme der Oberfläche eines Mineralisationsprodukts aus poly-AAm-5.

In Abbildung 6.3-11 sind die Analogiebeziehungen der Mineralisationsprodukte aus poly-AAm mit variablem Feststoffgehalt und der Aggregate aus unterschiedlichen Bereichen des poly-AAm-AMPS-Gelkörpers schematisch dargestellt. Mineralisationsprodukte, die in einer Zone etwa 5 bis 10 mm von der Grenzfläche zur  $\text{CaCl}_2$ -Lösung kristallisiert sind, ähneln den Produkten aus poly-AAm-20. Die Aggregate aus dem Mittelteil des Copolymers entsprechen den Mineralisationsprodukten aus einem poly-AAm-Hydrogel mit 5% Feststoffgehalt.

### AAm-20%



**Abbildung 6.3-11:** Schematische Darstellung der Analogiebeziehungen zwischen der ortsabhängigen Morphologie der Mineralisationsprodukte aus poly-AAm-AMPS und den Produkten aus poly-AAm mit unterschiedlichem Feststoffgehalt.

Die Ähnlichkeit der ortsabhängigen Mineralisationsprodukte aus poly-AAm-AMPS mit den Aggregaten aus poly-AAm mit unterschiedlichem Feststoffgehalt weist auf eine Kristallisation unter vergleichbaren Übersättigungsverhältnissen hin. In poly-AAm-AMPS gehen die hohen Konzentrationen auf die Immobilisierung von  $\text{Ca}^{2+}$  an polaren funktionellen Gruppen zurück. Für die Kristallisation in poly-AAm folgt hingegen eine hohe effektive Übersättigung aus der Porenstruktur des Wachstumsmediums: In porösen Medien wird die Bildung wachstumsfähiger Keime maßgeblich durch die Porenstruktur, insbesondere die Konnektivität der Kompartimente beeinflusst [Hal69]. In kleinen, abgeschlossenen Poren ist der Materialtransport zu einem Keimkristall eingeschränkt, so daß dieser erst bei vergleichsweise hohen Übersättigungen den kritischen Radius erreicht [Hen88]. Diese, durch kinematische Effekte hervorgerufene, effektive Übersättigung des Kristallisationsraums spiegelt sich jedoch nicht in den Werten der  $\text{Ca}^{2+}$ -Analyse wieder. Die Porengröße bzw. die effektive Übersättigung in poly-AAm läßt sich durch den Gehalt an Netzwerk-bildenden Monomeren einstellen (Feststoffgehalt). Für ein poly-AAm-Hydrogel mit 20% Feststoffgehalt ergibt sich basierend auf den Untersuchungen von M. White ein durchschnittlicher Porenradius von ca. 0,9 nm, der entsprechende Wert des poly-AAm-5 ist mit 18 nm doppelt so hoch [Whi60].

Die analogen Übersättigungsverhältnisse bei der Kristallisation in poly-AAm-20 bzw. in einem Bereich nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung in dem poly-AAm-AMPS-Copolymer spiegeln sich in der Erscheinungsform der Mineralisationsprodukte wieder. Die durchschnittliche Größe der Aggregate ist vergleichsweise gering, was auf einen verzögerten Kristallisationsbeginn zurückzuführen ist. Die kuppelartig gewölbten  $\{10\bar{1}4\}$  Flächen sind Folge besonders ausgeprägter Aggregation vorgeformter Wachstumseinheiten: Während die Morphogenese der oktaedrischen Mineralisationsprodukte aus unfunktionalisiertem poly-AAm auf einem dynamischen Gleichgewichtszustand von Aggregation und Flächenwachstum basiert (vgl. **6.2.6**), überwiegt bei sehr hohen Übersättigungen die Aggregation. Hohe Übersättigungen bewirken eine Zunahme der Keimbildungsrate bzw. eine Verringerung des kritischen Keimradius der vorgeformten Wachstumspakete. Der Gehalt an freien Ionen ist gering, so daß kein Flächenwachstum gemäß einem lagenweisen Mechanismus erfolgt. Im Gegensatz zu den Verhältnissen in unfunktionalisiertem poly-AAm können jedoch die aggregierenden Cluster, wenn auch eingeschränkt, auf der Rhomboederfläche eines wachsenden Keimkristalls diffundieren. Simultane Aggregation und Oberflächendiffusion führt somit zu kuppelartiger Aufwölbung der Wachstumsfront.

Die ausgeprägte Aggregation der vorgeformten Wachstumspakete in poly-AAm-AMPS nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung bzw. in poly-AAm-20 führt zu einer segmentierten Oberflächenstruktur der konstituierenden Subkristalle (Abbildung 6.3-10b). Aus der Porenlösung angelagerte Bausteine generieren permanent neue Flächenkeime. Die Verwachsung einzelner Lagen kann nicht mit der erneuten Flächenkeimbildung konkurrieren, so daß eine rauhe Oberfläche der Subkristalle entsteht. Demgegenüber sind die Subkristalloberflächen der Mineralisationsprodukte aus der mittleren Zone des poly-AAm-AMPS bzw. aus poly-AAm-5 glatt (Abbildung 6.3-10d). Die einzelnen Subkristalle ähneln rhomboedrischen Calcit-Kristallen aus verdünnten wäßrigen Lösungen [Ree83]. Offensichtlich kristallisieren diese Mineralisationsprodukte unter

vergleichsweise geringen Übersättigungen, so daß das Flächenwachstum der Subkristalle überwiegt. Infolge Aggregation großer Cluster bestehen die makroskopischen Mineralisationsprodukte zwar aus zahlreichen individuellen Kristalliten, die simultane Anlagerung atomar-ionischer Wachstumspakete bewirkt jedoch auch lagenweises Wachstum. Die verhältnismäßig großen Porenradien des poly-AAm-5 begünstigen demnach, ebenso wie die moderate Übersättigung im Mittelteil von poly-AAm-AMPS-Gelkörpern, das Flächenwachstum.

### 6.3.6 Zusammenfassung

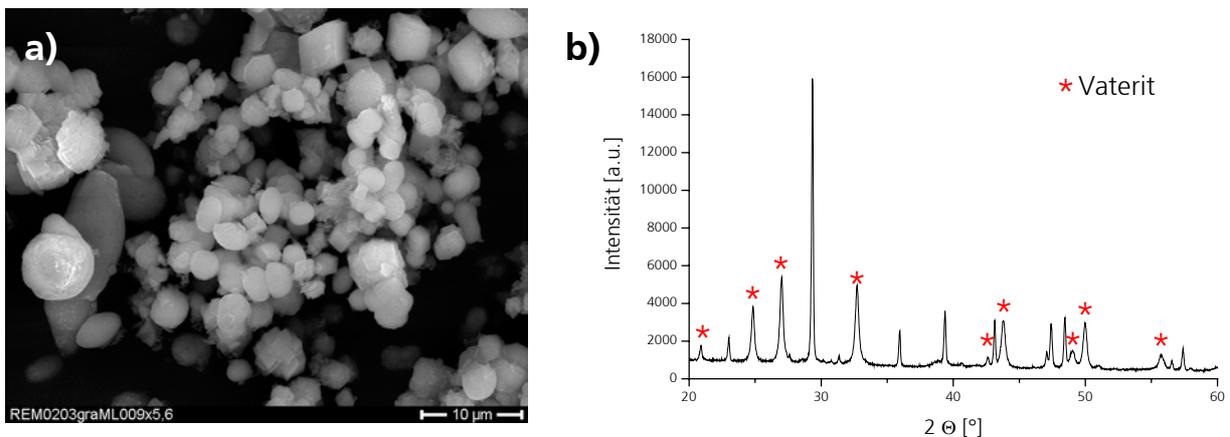
Funktionalisierung von poly-Acrylamid mit Sulfonatgruppen führt lediglich zu Modifikation des Wachstumsmechanismus gegenüber der unfunktionalisierten Matrix. Durch Immobilisierung von  $\text{Ca}^{2+}$  an den polaren Funktionalitäten werden die Übersättigungsverhältnisse der Porenlösung verändert. Die lokale Bündelung funktioneller Gruppen in dem Netzwerk (Netzwerktopographie) beeinflusst den räumlich-zeitlichen Verlauf der Kristallisation sowie die Mineralisationsdichte in dem Gelvolumen. Die ortsabhängige Morphologie der Mineralisationsprodukte ist auf die Größe der vorgeformten Wachstumspakete während der Aggregation zurückzuführen. Analoge Mechanismen sind in poly-AAm-Netzwerken mit unterschiedlicher Porengröße zu beobachten. Demzufolge wechselwirken die funktionellen Sulfonatgruppen lediglich unspezifisch mit der Kristallphase, vergleichbare Effekte lassen sich auch durch die Netzwerkstruktur eines unfunktionalisierten poly-AAm-Hydrogels einstellen.

## 6.4 Mineralisation in Carboxylat-funktionalisierten Copolymeren

Wie sich bei den Mineralisationsversuchen mit Sulfonat-funktionalisierten Copolymeren zeigte, führen ionische funktionelle Gruppen nicht in jedem Fall zu einer grundsätzlichen Variation der Materialabscheidung im Vergleich zu einem unfunktionalisierten Referenzsystem. Inwieweit die Art der funktionellen Gruppe einen Effekt auf die Materialabscheidung hat, sollte durch Experimente mit Carboxylat-funktionalisierten Copolymeren untersucht werden.

### 6.4.1 Mineralisationsprodukte

Im Verlauf der Mineralisation in Carboxylat-funktionalisierten Copolymeren (poly-AAm-AC) bilden sich nach einer Woche Versuchsdauer feinkristalline, „nebelartige“ Präzipitate. Auf der REM-Aufnahme (Abbildung 6.4-1a) sind runde Partikel mit 2-3  $\mu\text{m}$  Durchmesser sowie Kristalle mit der rhomboedrischen Gleichgewichtsform des Calcits zu erkennen. Das Röntgenpulverdiffraktogramm (XRD) weist Anteile der beiden  $\text{CaCO}_3$ -Modifikationen Vaterit und Calcit nach (Abbildung 6.4-1b). Basierend auf einer Rietveld-Verfeinerung der Intensitäten (Software Siroquant) wurde ein Anteil von 54% Vaterit und 46% Calcit gefunden. Um die Ergebnisse der quantitativen Phasenanalyse abzusichern, wurde eine Referenzprobe, die zu gleichen Teilen aus Vaterit und Calcit besteht, untersucht. Zu diesem Zweck wurden je 1 g Calcit (gemörsertes Islandspat) und Vaterit (Synthese aus wässriger Lösung [Mal02]) vermischt und texturfrei präpariert. Die Intensitäten der Referenzprobe unterscheiden sich nur unwesentlich von den Werten der nebelartigen Präzipitate, so daß das Ergebnis der quantitativen Phasenanalyse bestätigt ist. Die Halbwertsbreite (FWHM) der Beugungsmaxima des Vaterit (Abbildung 6.4-1b) ist deutlich größer als die gerätebedingte FWHM, was auf Kristallgrößeneffekte zurückzuführen ist. Unter Verwendung der Scherrer-Gleichung [Klu74] errechnet sich aus der Halbwertsbreite des  $(11\bar{2}2)$  Reflexes die Kristallitgröße der Vateritphase zu 29 nm.



**Abbildung 6.4-1:** a) REM-Aufnahme der Mineralisationsprodukte aus poly-AAm-AC nach einer Woche Versuchsdauer, b) Röntgenpulverdiffraktogramm der Mineralisationsprodukte nach einer Woche Versuchsdauer, die Beugungsmaxima des Vaterits sind markiert.

Da Vaterit thermodynamisch metastabil ist und sich in wäßrigen Lösungen gemäß der Ostwald-Lussac'schen Stufenregel in die thermodynamisch stabile Modifikation umwandelt [Gab98], ist davon auszugehen, daß noch während der Doppeldiffusion ein Teil des primär gebildeten Vaterits in Calcit umkristallisiert. Im Röntgenpulverdiffraktogramm konnte dennoch ein Anteil von 54% Vaterit nachgewiesen werden. Die vergleichsweise geringen Absolutintensitäten der Vaterit-Reflexe (Abbildung 6.4-1b) sind auf die Flächenhäufigkeit der  $\{10\bar{1}4\}$  Form des Calcits sowie auf die Verbreiterung der Beugungsmaxima des Vaterits zurückzuführen.

Nach der initialen Bildung nebelartiger Präzipitate ist zunächst keine weitere Veränderung in dem Gelkörper zu erkennen. Erst nach etwa zwei Wochen Versuchsdauer sind makroskopische Kristalle mit bloßem Auge zu unterscheiden. Abbildung 6.4-2a gibt das Bruchstück eines derartigen Mineralisationsprodukts nach vierwöchiger Doppeldiffusion wieder. Das Gefüge der bis zu 1000  $\mu\text{m}$  großen Calcit-Kugeln (XRD) ist kompakt. Der Bruch erfolgt nicht entlang bevorzugter Spaltflächen, die gebogene Bruchfläche entspricht einem conchoidalen Bruchverhalten. In der Mitte der Kugeln ist ein feinkörniger Bereich zu erkennen (Abbildung 6.4-2b), Aufladungen während der REM-Untersuchung weisen auf hohe Porosität hin. Die Oberfläche der Mineralisationsprodukte erscheint bei geringer Vergrößerung homogen, bei höherer Vergrößerung sind etwa 150 nm große trigonale Strukturen zu beobachten (Abbildung 6.4-2c).



**Abbildung 6.4-2:** a) REM-Aufnahme eines Mineralisationsprodukts aus poly-AAm-AC nach 28 Tagen Mineralisationsdauer, b) Detailaufnahme des mittleren Bereichs der sphärischen Mineralisationsprodukte, c) trigonale Strukturen auf der Oberfläche.

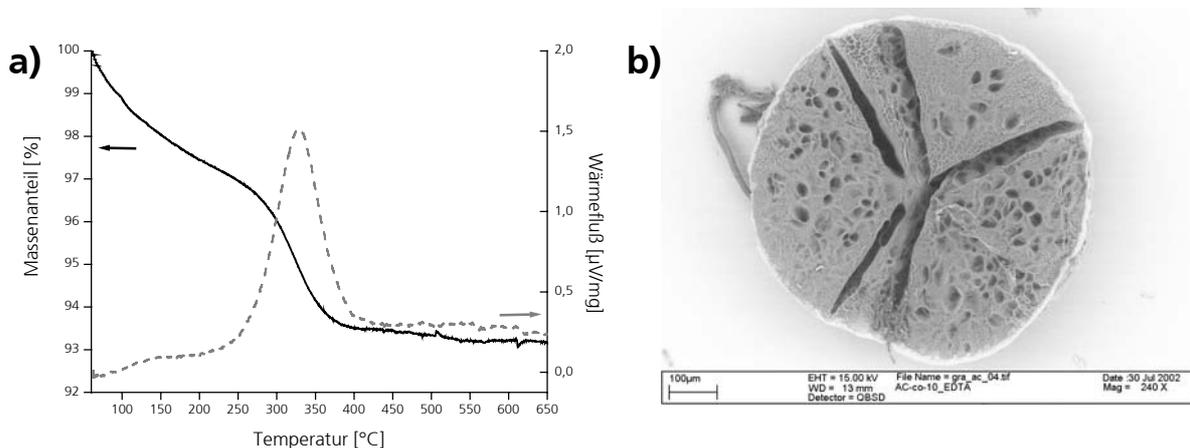
Die Morphologie der makroskopischen Mineralisationsprodukte und deren Bruchverhalten weichen deutlich von den Produkten des unfunktionalisierten poly-AAm ab. Bei natürlichen Biomineralisationsprodukten wird chonchoidales Bruchverhalten auf die Wirkungsweise inkorporierter Bestandteile der organischen Matrix zurückgeführt [Ber88]. Daher wurden im folgenden die Verwachsungsverhältnisse der Copolymermatrix mit den makroskopischen Mineralisationsprodukten untersucht.

### 6.4.2 Kompositcharakter

Thermogravimetrisch konnte für die makroskopischen Calcit-Kugeln ein Gehalt organischer Substanz von 4,2 Gew.-% nachgewiesen werden (Abbildung 6.4-3a). Basierend auf der Dichte des Calcits ( $2,72 \text{ g/cm}^3$  [Dee92]) und der Dichte des Polymers ( $1,3 \text{ g/cm}^3$ ) errechnet sich somit eine Volumenanteil des inkorporierten Netzwerks von 8,8%.

Der in die makroskopischen Mineralisationsprodukte inkorporierte Anteil der organischen Substanz liegt über dem Wert, der sich für eine volumenkonforme Verwachsung errechnet (3,7 Gew.-%). Die geringe Differenz ist möglicherweise auf adsorptiv an die funktionellen Gruppen des Copolymers gebundenes Wasser zurückzuführen. Die zusätzlich inkorporierten Wassermoleküle führen demnach zu einem höheren Wert des temperaturabhängigen Massenverlustes als bei volumenkonformer Verwachsung mit einem „trockenem“ Polymer. In jedem Fall ist eine Verdrängung des Hydrogel-Netzwerks während des Kristallwachstums, wie es bei der Mineralisation in poly-AAm beobachtet wurde (vgl. 6.2.2), auszuschließen.

Nach selektiver Komplexierung der Kristallphase mit neutraler EDTA-Lösung verbleibt ein organischer Rückstand. Im feuchten Zustand ist die Gestalt des Rückstands kongruent mit der Kugelgestalt des ursprünglichen Makrokristalls. Gefriertrocknung führt zu sekundärer Aufweitung von Poren und Rissen, die kugelige Ausgangsgestalt bleibt jedoch erhalten und läßt sich mit einem REM abbilden (Abbildung 6.4-3b). Bei Vergleich mit Abbildung 6.4-2a fällt die deutliche Übereinstimmung mit den ungelösten Mineralisationsprodukten auf.



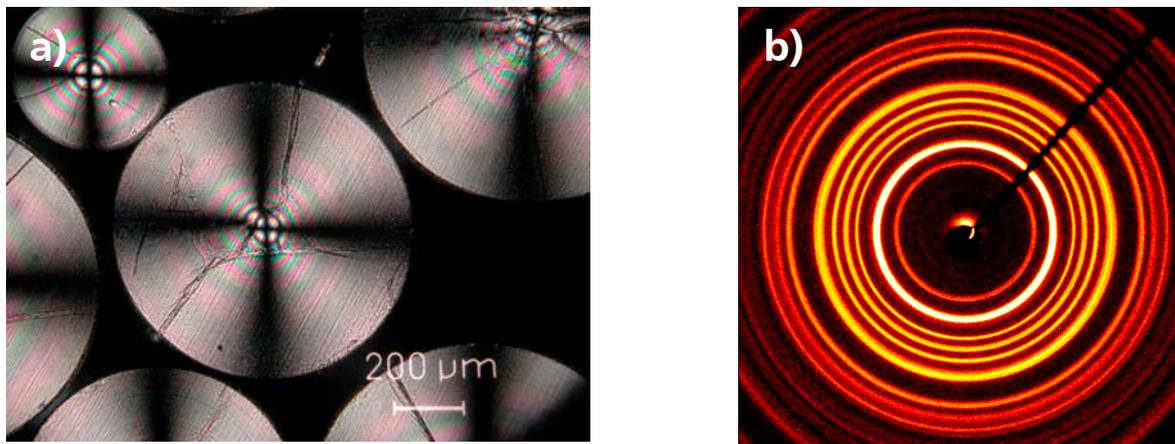
**Abbildung 6.4-3:** a) Massenanteil und Wärme flu ß im Verlauf der Thermoanalyse von makroskopischen Mineralisationsprodukten aus poly-AAm-AC, b) REM-Aufnahme des gefriergetrockneten, organischen Rückstands nach selektiver Komplexierung des  $\text{CaCO}_3$  mit EDTA-Lösung.

Während die Kompositpartikel aus Gelatinegel ein heterogenes Verwachsungsgefüge der organische Matrix mit der Kristallphase aufweisen, läßt die kompakte Struktur des organischen Rückstands eine vergleichsweise homogene Inkorporation der organischen Substanz erkennen. Es ist daher von einer „passiven“ Inkorporation der organischen Matrix in die Mineralisationsprodukte auszugehen. Dies entspricht Beobachtungen, die bei der Kristallzucht von  $\text{CaCO}_3$  in Silicagelen gemacht wurden [Hen88]: Rhomboedrische Calcit-Kristalle sind volumenkonform mit dem Gel verwachsen, ein Effekt auf den Wachstumsprozeß ist nicht nachzuweisen.

### 6.4.3 Strukturuntersuchungen

Polarisationsmikroskopische Untersuchungen an Dünnschliffen der Calcit-Kugeln (gekreuzte Polarisatoren) belegen ein sphärolithisches Gefüge der Mineralisationsprodukte (Abbildung 6.4-4a): Bei Drehung der Probe befinden sich immer Bereiche parallel zu Analysator und Polarisator in Auslöschungsstellung. Das resultierende Brewster-Kreuz charakterisiert eine kugelsymmetrische, radialstrahlige Orientierung der konstituierenden Kristallphase. Die farbige Interferenz der nicht ausgelöschten Bereiche gehen auf die hohe Doppelbrechung des Calcits ( $\Delta n = -0,172$  [Pic93]) zurück.

Das Röntgen-Einkristallbeugungsbild einzeln präparierter Sphärolithe zeigt ein konzentrisches Ringmuster (Abbildung 6.4-4b). Ein vergleichbares Beugungsbild ergibt sich für Pulverproben mit theoretisch unendlicher Anzahl der Streuzentren. Die radiale Intensitätsverteilung der Beugungsringe ist homogen und läßt keine Textur der Probe erkennen.



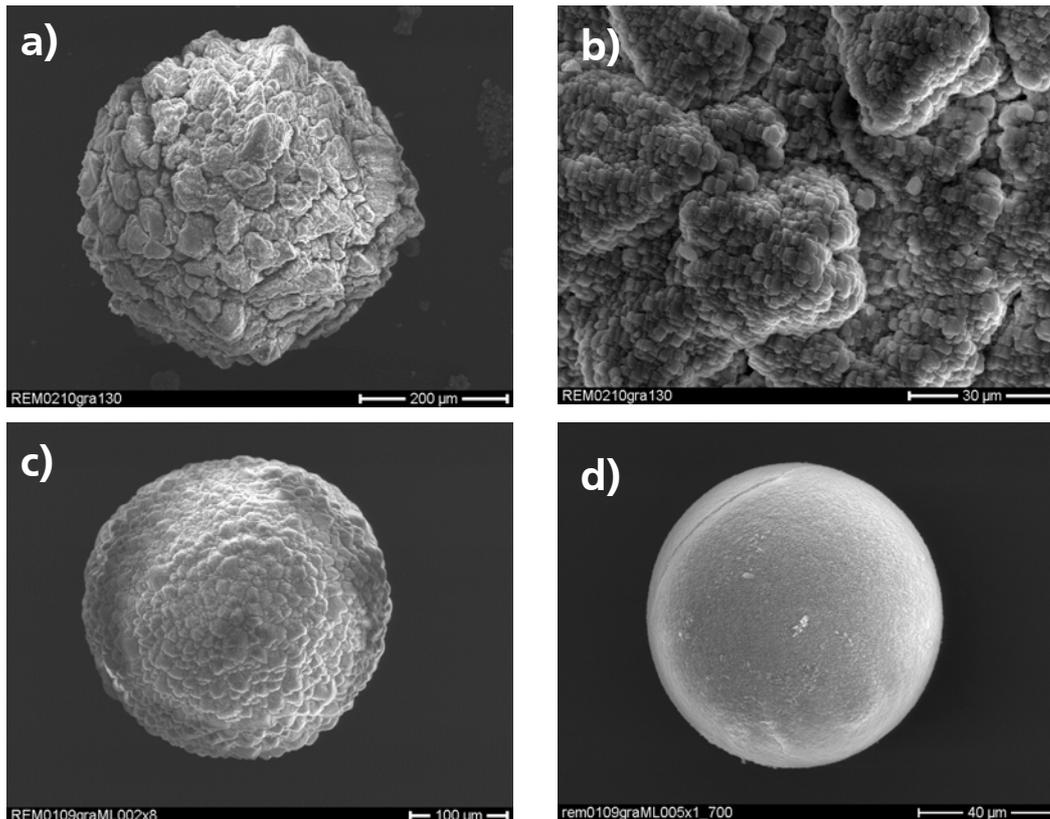
**Abbildung 6.4-4:** **a)** Polarisationsmikroskopische Aufnahme eines sphärolithischen Mineralisationsprodukts aus poly-AAm-AC (gekreuzte Polarisatoren), **b)** Röntgeneinkristalldiffraktogramm.

Die trigonalen Strukturen auf der Oberfläche der Calcit-Sphärolithe (Abbildung 6.4-2c) entsprechen der dreizähligen Symmetrie der kristallographischen c-Achse des Calcits. Aus dem Einkristall-Diffraktogramm ergibt sich eine statistische Orientierung der Streuzentren, im Polarisationsmikroskop ist bei gekreuzten Nicols ein Brewster-Kreuz zu sehen. Demzufolge liegt die Längsachse der ellipsoidalen optischen Indikatrix des Calcits parallel zu Analysator bzw. Polarisator, was mit einer radialen Orientierung der c-Achsen der Kristallphase übereinstimmt. Wie die Ergebnisse belegen, sind die Sphärolithe aus zahlreichen quasi-eindimensionalen Calcit-Kristallen, deren c-Achsen auf den Mittelpunkt der Kugeln weisen, zusammengesetzt.

### 6.4.4 Gehalt an funktionellem Monomer

Das sphärolithische Gefüge der Mineralisationsprodukte aus poly-AAm-AC unterscheidet sich grundsätzlich von dem makroskopisch einkristallinem Gefüge der oktaedrischen Produkte aus reinem poly-AAm. Um diesen scheinbar un stetigen Übergang der Morphogenese näher zu untersuchen, wurden Doppeldiffusionsversuche in poly-AAm-AC-Gelen mit unterschiedlichem Gehalt funktioneller Gruppen durchgeführt.

Abbildung 6.4-5 zeigt Mineralisationsprodukte, die nach zweiwöchiger Versuchsdauer aus Copolymermatrices mit 1, 5 und 10 Mol-% Acrylsäure-Monomer isoliert wurden (poly-AAm-AC-1%, poly-AAm-AC-5%, poly-AAm-AC-10%). In allen drei Hydrogelmatrices entstehen sphärische Calcit-Makrokristalle. Während die Aggregate in poly-AAm-AC-1% (Abbildung 6.4-5a) bereits nach einer Woche mit bloßem Auge sichtbar sind, setzt die Mineralisation der Makrokristalle in poly-AAm-AC-10% (Abbildung 6.4-5d) erst nach zwei Wochen Versuchsdauer ein. Der unterschiedliche Kristallisationsbeginn bzw. die unterschiedliche Zeitspanne der Kristallisation führt zu abweichenden Durchmessern der Mineralisationsprodukte.



**Abbildung 6.4-5:** REM-Aufnahmen der Produkte aus Carboxylat-funktionalisierten Copolymeren mit unterschiedlichem Gehalt funktioneller Monomere: **a)** poly-AAm-AC-1%, **b)** Oberflächenstrukturen auf einem Mineralisationsprodukt aus poly-AAm-AC-1%, **c)** poly-AAm-AC-5%, **d)** poly-AAm-AC-10%.

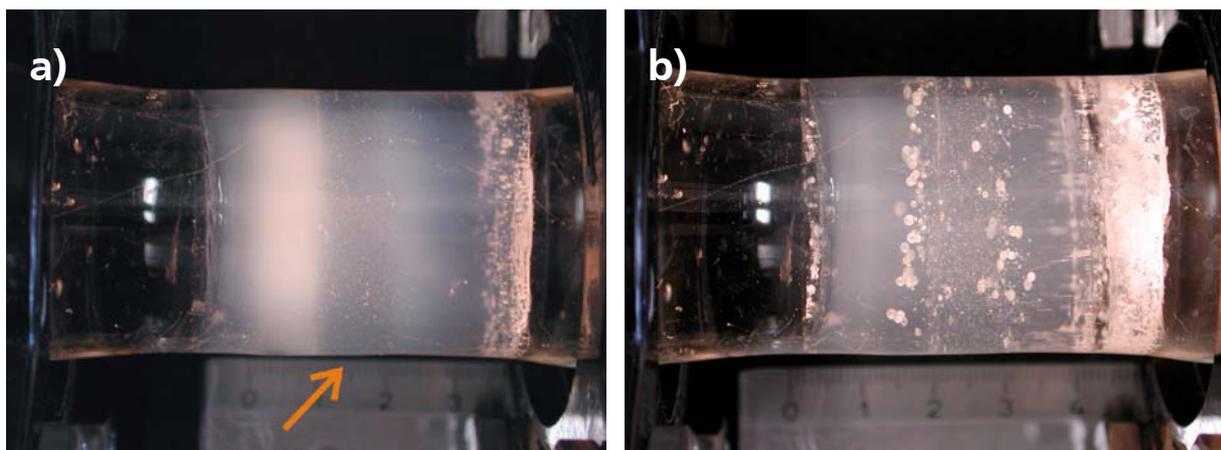
Mit zunehmendem Carboxylatgruppen-Gehalt der Copolymermatrix wird die Kugelgestalt deutlicher und die Oberfläche der Mineralisationsprodukte erscheint homogener. Während die Makrokristalle aus poly-AAm-AC-10% eine nahezu perfekte Kugel darstellen, nehmen die Mineralisationsprodukte des poly-AAm-AC-1% eine Zwischenstellung zwischen Kugelgestalt und der für unfunktionalisiertes poly-AAm beschriebenen Oktaeder-Morphologie ein: Bei höherer Vergrößerung sind im REM oktaederähnliche Strukturen auf der Oberfläche zu erkennen (Abbildung 6.4-5b). Die beobachteten Oberflächenstrukturen weisen deutliche Gemeinsamkeiten mit den oktaedrischen Aggregaten aus unfunktionalisiertem poly-AAm auf. Die einzelnen oktaederähnlichen Oberflächenstrukturen erscheinen regellos miteinander verwachsen. Die Produkte des poly-AAm-AC-5% nehmen hinsichtlich Größe und Oberflächenstruktur eine Zwischenstellung ein (Abbildung 6.4-5c).

Die Morphologie der Produkte aus poly-AAm-AC-1% weist darauf hin, daß sich die Kristallisationsmechanismen des poly-AAm und eines mit 10 Mol-% funktionalisierten poly-AAm-AC überlagern. Während die regellose Orientierung der oktaederähnlichen Oberflächenstrukturen einer sphärolithischen Kristallisation entspricht, scheint das Wachstum der Oberflächenstrukturen auf einem Aggregations-basierten Mechanismus zurückzuführen zu sein. Um weitere Erkenntnisse über den Kristallisationsmechanismus in Carboxylat-funktionalisierten Copolymeren zu erlangen, wurde der zeitliche Verlauf der Kristallisation untersucht.

#### 6.4.5 Verlauf der Mineralisation

Im zeitlichen Verlauf der Mineralisation in poly-AAm-AC bildet sich zunächst ein feinkörniges Phasengemenge aus Vaterit und Calcit, mit fortschreitender Versuchsdauer entstehen makroskopische Calcit-Sphärolithe. Aus der Beobachtung und Dokumentation der Versuchsanordnung nach unterschiedlichen Zeiträumen ergeben sich Rückschlüsse auf den Kristallisationsmechanismus.

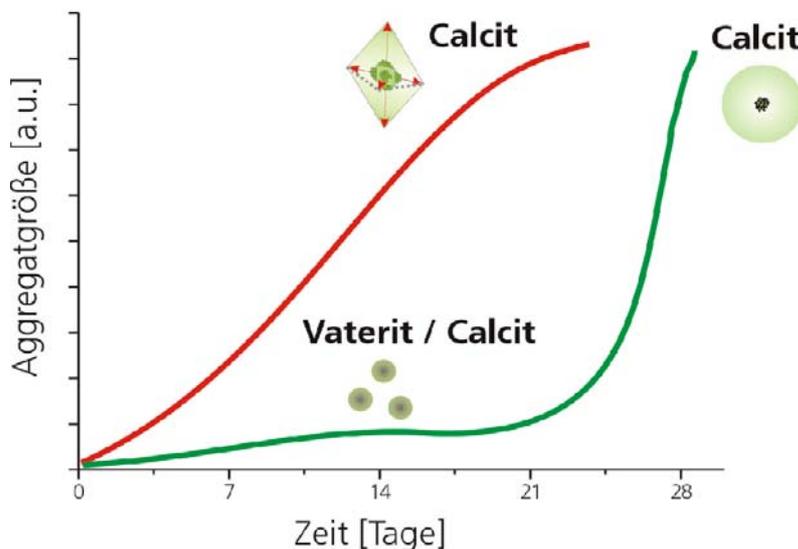
In Abbildung 6.4-6 ist das Mittelstück der Doppeldiffusionsapparatur nach zwei- bzw. vierwöchiger Versuchsdauer wiedergegeben. Kristallisation des Vaterit / Calcit-Gemenges führt zu Trübung des transparenten Gelkörpers. Die einsetzende sphärolithische Kristallisation kugelförmiger Makrokristalle ist mit einer Aufklärung dieser Trübung im Bereich der wachsenden Sphärolithe verbunden (Markierung in Abbildung 6.4-6a). Nach 4 Wochen Versuchsdauer sind makroskopische Mineralisationsprodukte in einem weitgehend aufgeklärten Gelkörper zu erkennen (Abbildung 6.4-6b). Die Anzahl der Calcit-Kugeln in dem Gelvolumen ist jedoch verhältnismäßig gering.



**Abbildung 6.4-6:** Mittelstücke der Doppeldiffusionsanordnung: **a)** nach zwei Wochen Versuchsdauer (ein Bereich mit einsetzender sphärolithischer Kristallisation ist markiert), **b)** nach vier Wochen Versuchsdauer.

Die Aufklärung der initialen Trübung des Gelkörpers ist auf die Resorption der überwiegend aus Vaterit bestehenden Vorläuferphase zurückzuführen. Offensichtlich werden die feinkristallinen Vaterit-Partikel in der Umgebung wachsender Calcit-Sphärolithe gelöst, die mobilisierten Ionen werden in das Kristallgitter des Calcit eingebaut.

In Abbildung 6.4-7 ist der zeitliche Verlauf der Kristallisation, als zeitabhängige Änderung der relativen Aggregatgröße, schematisch dargestellt. Der Mineralisation in Carboxylat-funktionalisierten Matrices ist der Kristallisationsverlauf in unfunktionalisiertem poly-AAm gegenübergestellt. In poly-AAm sind bereits nach wenigen Tagen oktaedrische Aggregate mit bloßem Auge zu erkennen, im weiteren Verlauf der Mineralisation wachsen diese kontinuierlich weiter. Nach etwa drei Wochen stagniert das Wachstum der oktaedrischen Aggregate. Im Gegensatz zu diesem näherungsweise linearen Verlauf erfolgt die Mineralisation in poly-AAm-AC-Copolymeren als zweistufiger Prozeß: Innerhalb weniger Tage bildet sich ein feinkörniger Niederschlag von Vaterit und Calcit. Nach etwa zwei Wochen werden die Vaterit-Partikel unter sphärolithischer Kristallisation von Calcit resorbiert. Das poröse, feinkörnige Gefüge des zentralen Bereichs der Calcit-Kugeln (Abbildung 6.4-2b) sowie die radialsymmetrische Orientierung der Kristallphase kennzeichnet ein Kristallwachstum, das von einem ungeordneten, chaotischen Keim ausgeht. Die Sphärolithe wachsen innerhalb kurzer Zeit zu großen kugeligen Mineralisationsprodukten, während sich die metastabile Vorläuferphase auflöst. Das Wachstum der Calcit-Rhomboeder, die bereits nach zwei Wochen Mineralisationsdauer nachzuweisen sind (Abbildung 6.4-1), tritt zugunsten der raschen sphärolithischen Kristallisation der Calcit-Kugeln in den Hintergrund.



**Abbildung 6.4-7:** Schematische Darstellung des zeitlichen Verlaufs der Mineralisation in poly-AAm-AC (grün) und in poly-AAm (rot).

Der zweistufige Verlauf der Kristallisation ist auf die Wirkungsweise der funktionellen Carboxylatgruppen zurückzuführen: Offensichtlich wird der metastabile Vaterit intermediär stabilisiert. Infolge zufälliger, lokaler Fluktuationen kommt es zu sphärolithischer Kristallisation der thermodynamisch stabilen Phase. Große Mengen  $\text{CaCO}_3$  liegen als leicht löslicher Vaterit in der Umgebung dieser rasch wachsenden Sphärolithe vor, so daß die Makrokristalle verhältnismäßig große Durchmesser erreichen können [Gra03c].

### ***Kristallisationsmechanismus***

Aus den Untersuchungsergebnissen ergeben sich Rückschlüsse auf den Kristallisationsmechanismus der makroskopischen Mineralisationsprodukte: Die initiale Vaterit-Kristallisation weist auf die kinetische Stabilisierung der Vorläuferphase durch die funktionellen Gruppen in dem Copolymer-Netzwerk hin. Offensichtlich wird die Keimbildung maßgeblich durch die Carboxylatgruppen beeinflusst. Durch die intermediäre Stabilisierung des Vaterits kommt es im Verlauf der Doppeldiffusion zu wesentlicher Veränderung der Übersättigungsverhältnisse in Vergleich zu unfunktionalisiertem poly-AAm. Nach etwa zwei Wochen Versuchsdauer „kippt“ das System und es erfolgt schnelle, raumgreifende Kristallisation der Calcit-Sphärolithe.

Sphärolithische Kristallisation wird für unterschiedliche Milieus beschrieben [Sch71, Add92]. Es ist daher kein spezifischer Wachstumsmechanismus eines Carboxylat-funktionalisierten Copolymers. Die Wirkungsweise der funktionellen Gruppen beschränkt sich lediglich auf die Keimbildung und führt auf diese Weise zu Übersättigungsverhältnissen, unter denen die sphärolithische Kristallisation der günstigste Wachstumsmechanismus ist. Die Wirkungsweise der Funktionalisierung auf das Wachstum der makroskopischen Mineralisationsprodukte ist lediglich sekundär.

Funktionalisierung eines poly-AAm-Netzwerks mit geringen Anteilen funktioneller Monomere (poly-AAm-AC-1%) führt zu Wachstumsformen, deren Morphologie Kennzeichen der sphärolithischen Kristallisation und der für poly-AAm typischen Aggregation aufweist (Abbildung 6.4-5a). Offensichtlich ist die Keimbildung maßgeblich von den funktionellen Carboxylatgruppen geprägt, das weitere Wachstum der makroskopischen Mineralisationsprodukte basiert auf der Aggregation vorgeformter Wachstumseinheiten, wie es für die Oktaedergenese in unfunktionalisiertem poly-AAm postuliert wurde (vgl. **6.2.6**).

#### **6.4.6 Zusammenfassung**

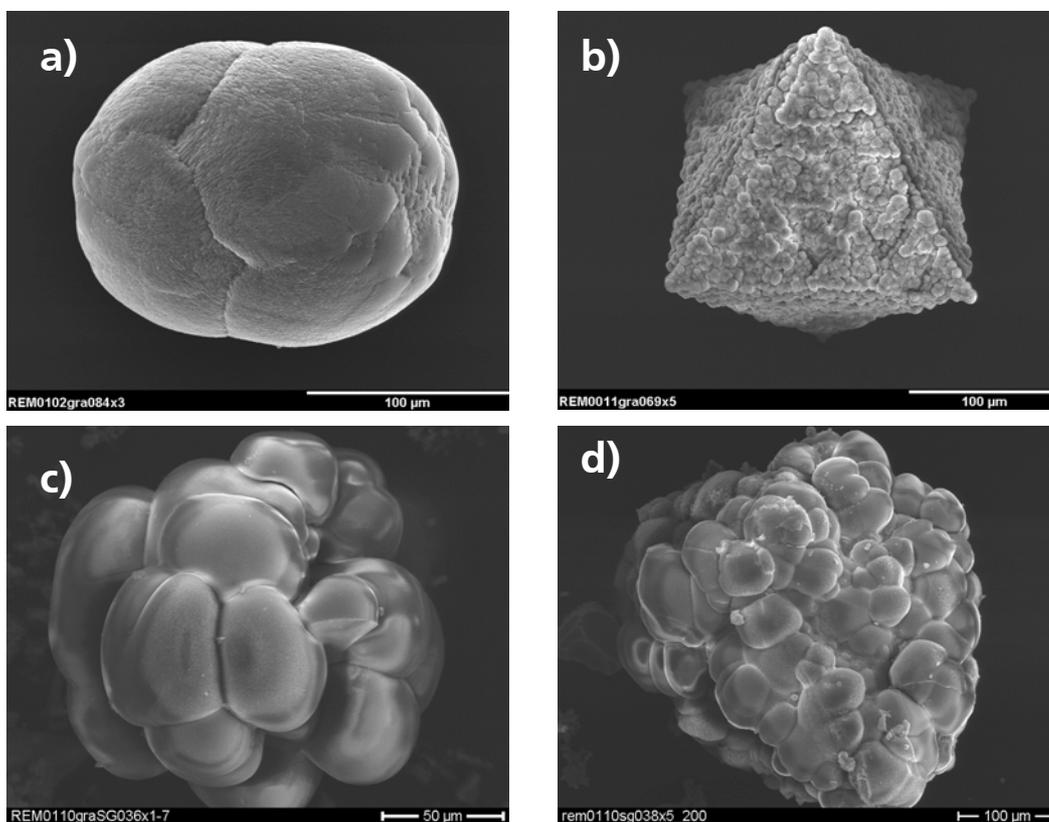
Während die Funktionalisierung eines poly-AAm-Netzwerks mit stark polaren Sulfonatgruppen die Materialabscheidung lediglich modifiziert, bewirkt die Funktionalisierung mit Carboxylatgruppen eine grundsätzliche Veränderung der Mineralisation. Zunächst bildet sich ein feinkörniger Niederschlag, der zu wesentlichen Teilen aus Vaterit besteht. Lokale Fluktuation in dem Gelvolumen führen unter Auflösung dieser Vorläuferphase zu rascher sphärolithischer Kristallisation von Calcit. Die Mineralisation in mit Carboxylatgruppen funktionalisierten Matrices ist auf die Verhältnisse der Keimbildung zurückzuführen: Die funktionellen Gruppen begünstigen die Bildung zahlreicher konkurrierender Keime, die nicht zu makroskopischen Kristallen anwachsen. Im Vergleich zu einem unfunktionalisierten poly-AAm-Hydrogel sind die Übersättigungsverhältnisse im Verlauf der Doppeldiffusion wesentlich verändert. Daher ist ein sphärolithisches Wachstum makroskopischer Mineralisationsprodukte der energetisch günstigste Mechanismus.

## 6.5 Mineralisation in Gegenwart von Additiven

In der Fachliteratur ist noch weitgehend umstritten, inwieweit natürliche Kollagenmatrices selbst den Biomineralisationsvorgang induzieren und chemisch direkt mit der Kristallphase wechselwirken [Rhe00, Fal00a, Rhe01] oder nicht-kollagene Bestandteile notwendige Voraussetzung sind [Bos89, Bos96]. Bei der Mineralisation von  $\text{CaCO}_3$  in Gelatinegel konnte keine spezifische Wechselwirkung der organischen Matrix mit den Mineralisationsprodukten beobachtet werden (vgl. 6.1). Daher wurde die Mineralisation in Gegenwart von poly-L-Aspartat (poly-L-Asp), als Modellsubstanz nicht-kollagener Proteine, untersucht. Es wird sowohl der Effekt des Additivs auf die Materialabscheidung in Gelatinegel als auch in poly-AAm diskutiert.

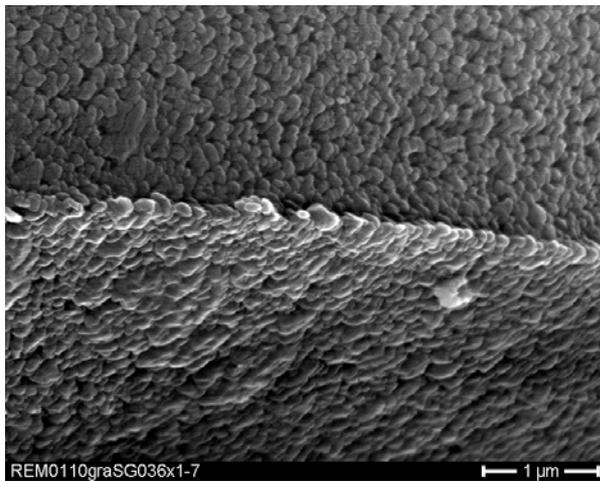
### 6.5.1 Mineralisationsprodukte

In Abbildung 6.5-1 sind Mineralisationsprodukte, die nach einer Woche Versuchsdauer aus mit poly-L-Asp versetzten Gelmatrices herauspräpariert wurden, den Mineralisationsprodukten der entsprechenden Gele ohne Additiv gegenübergestellt. Die Formen der Produkte aus poly-L-Asp-haltigen Gelen unterscheiden sich grundsätzlich von den charakteristischen Mineralisationsprodukten der reinen Gelmatrices. Während Morphologie und Gefüge der hantelähnlichen Produkte aus Gelatinegel und der oktaedrischen Aggregate aus poly-AAm deutlich voneinander abweichen, sind sich die Mineralisationsprodukte der entsprechenden Gele in Gegenwart von poly-L-Asp ähnlich.



**Abbildung 6.5-1:** Typische Mineralisationsprodukte aus Gelatinegel (a), aus poly-AAm (b) und Agglomerate aus mit poly-L-Aspartat versetztem Gelatinegel (c), aus poly-AAm mit Additiv (d).

Im Gegensatz zu den Mineralisationsprodukten der reinen Hydrogele sind die Produkte aus den Gelen mit Additiv nicht von makroskopischen Kristallflächen begrenzt. Die Mineralisationsprodukte lassen einen hierarchischen Aufbau aus Einheiten unterschiedlicher Größenordnung erkennen: „Primärpartikel“ von etwa 100 nm Durchmesser sind zu 30-50 µm großen, sphärischen Untereinheiten organisiert (Abbildung 6.5-2). Je nach Anzahl der konstituierenden Untereinheiten weisen die makroskopischen Produkte Durchmesser zwischen 100 und 500 µm auf. Bei der Handhabung der Proben mit einer Pinzette fällt die geringe mechanische Beständigkeit auf: Die makroskopischen Produkte zerfallen dabei in die konstituierenden Untereinheiten. Röntgendiffraktometrisch (XRD) wurde als einzige kristalline Phase Vaterit nachgewiesen.



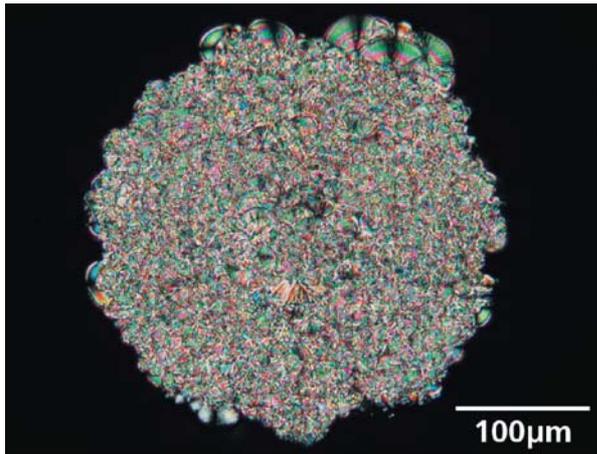
**Abbildung 6.5-2:** REM-Aufnahme einer Untereinheit eines Vaterit-Agglomerats aus mit poly-L-Asp versetztem Gelatinegel.

Durch Zugabe von poly-L-Asp zu der Porenlösung von Gelatinegel bzw. poly-AAm wird die morphogenetische Wirkung der reinen Matrices überdeckt, so daß die Kristallisationsmechanismen von  $\text{CaCO}_3$  in Gelatinegel bzw. poly-AAm nicht mehr wirksam sind [Gra02]. Diese grundsätzliche Veränderung läßt sich auf die polymorphe Selektivität des zugesetzten Additivs zurückführen. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Falini *et al.* induziert die enantiomerenreine poly-Aminosäure die Kristallisation von Vaterit [Fal00]. Von maßgeblicher Bedeutung für die permanente Stabilisierung des metastabilen Vaterits ist die  $\beta$ -Faltblattstruktur des Additivs, die sich in wäßrigen Lösungen ausbildet [Fal98, Man93].

Im Gegensatz zu Calcit bildet Vaterit selten idiomorphe Kristalle, häufiger sind sphärische Partikel, die nicht von ebenen Kristallflächen begrenzt sind [Vuc99]. Die beschriebenen Kristallisationsmechanismen von Calcit in Gelatinegel und poly-AAm setzen jedoch einen initialen Keim mit einer rhomboedrischen Nahordnung voraus (vgl. 6.1.5 und 6.2.6). Aufgrund der abweichenden kristallchemischen Eigenschaften des Vaterits kann sich in den mit poly-L-Asp versetzten Matrices dieses Grundschema nicht ausbilden. Stattdessen kristallisieren feinkörnige Primärpartikel, die sich zu höher organisierten Agglomeraten fügen. Die beschriebene hierarchische Struktur ist auf einen mehrstufigen Agglomerationsprozeß zurückzuführen: Die Primärpartikel bilden zunächst Einheiten, die im Verlauf der Mineralisation zu makroskopischen Produkten verwachsen.

### 6.5.2 Polarisationsmikroskopie

Abbildung 6.5-3 zeigt den Dünnschliff eines Mineralisationsprodukts aus einer mit poly-*L*-Asp versetzten poly-AAm-Matrix. Die Produkte aus Gelatinegel mit Additiv sind diesem unmittelbar zu vergleichen. Die einzelnen Untereinheiten der Agglomerate aus mit poly-*L*-Asp versetztem Gel weisen bei gekreuzten Polarisatoren Brewster-Kreuze auf, wie dies für ein sphärolitisches Gefüge charakteristisch ist. Das Gesamtgefüge der Agglomerate ist jedoch nicht konzentrisch, es ist kein zentraler Keimbereich zu erkennen.



**Abbildung 6.5-3:** Polarisationsmikroskopische Aufnahme eines Agglomerats aus mit poly-*L*-Asp versetztem poly-AAm (gekreuzte Polarisatoren).

Die polarisationsmikroskopischen Untersuchungen belegen den Agglomeratcharakter der Mineralisationsprodukte. Offensichtlich geht das Wachstum nicht von einem zentralen Keim aus. Zahlreiche sphärolitische Untereinheiten sind regellos zu einem makroskopischem Produkt verwachsen.

### 6.5.3 Zusammenfassung

Die Wirkungsweise von poly-*L*-Aspartat überdeckt den spezifischen Kristallisationsmechanismus von reinem Gelatinegel bzw. poly-Acrylamid. Die initial gebildeten Vaterit-Primärpartikel fügen sich zu hierarchischen Agglomeraten mit geringer Kohärenz der Bestandteile. Die Gegenwart von poly-*L*-Aspartat bewirkt eine permanente Stabilisierung von Vaterit.

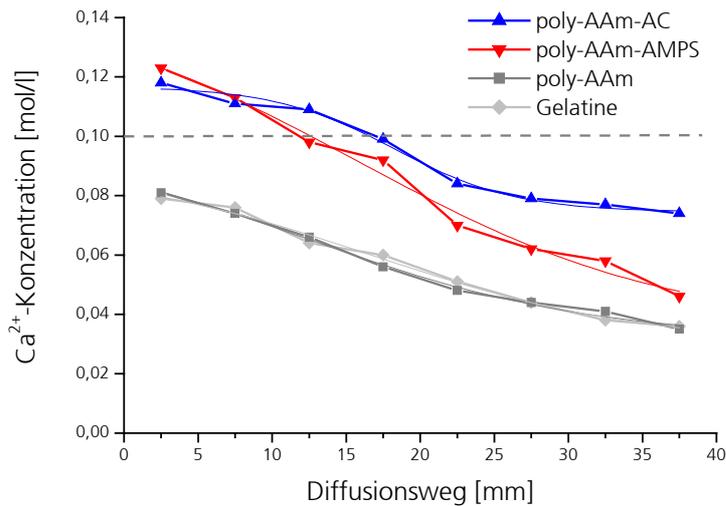
## 6.6 Systemübergreifende Untersuchungen

Die systemspezifischen Wechselwirkungen der untersuchten Hydrogelmatrixen mit der anorganischen Phase spiegeln sich in den Verhältnissen der Keimbildung sowie dem Gehalt des  $\text{CaCO}_3$  in dem jeweiligen Gelvolumen (Mineralisationsgrad) wieder. Bei Doppeldiffusionsversuchen wird die Materialabscheidung maßgeblich von der Diffusion der beteiligten Komponenten beeinflusst. Es wurden daher systemübergreifende Untersuchungen der  $\text{Ca}^{2+}$ -Diffusion, des Mineralisationsgrads sowie der Keimbildung durchgeführt.

### 6.6.1 Konzentrationsverhältnisse

Da die Kristallisationsverhältnisse maßgeblich von der jeweiligen Übersättigung des Systems geprägt sind, wurde die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration verschiedener Segmente der Gelkörper nach einer Woche Versuchsdauer ermittelt. Bei Doppeldiffusion wird der  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt durch die Fällungsreaktion des  $\text{CaCO}_3$  beeinträchtigt, so daß die Konzentrationsverhältnisse durch eine Einfachdiffusionsanordnung angenähert wurden. Die Quantifizierung des  $\text{CO}_3^{2-}$ -Gehalts ist infolge des hohen Kohlenstoff-Gehalts der Gelmatrixen nicht praktikabel. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, daß die Diffusion der  $\text{CO}_3^{2-}$ -Anionen weniger stark durch die funktionellen Gruppen beeinträchtigt wird. Somit ist die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration ein Maß für die Übersättigung der Porenlösung.

In Abbildung 6.6-1 sind die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsprofile in Gelatinegel, poly-AAm, poly-AAm-AMPS („statistisch“ copolymerisiert) sowie in poly-AAm-AC dargestellt. Nach einer Woche Diffusionsdauer lassen die Diffusionsprofile einen sigmoidalen Verlauf erkennen, der  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt nimmt mit zunehmender Entfernung von der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung ab. Die ortsaufgelösten Werte nach Diffusion in Gelatinegel bzw. poly-AAm stimmen weitgehend überein. In unmittelbarer Nähe zu dem Überstand liegen die Konzentrationen etwa 0,02 mol/l unter der Ausgangskonzentration der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung, mit zunehmendem Diffusionsweg halbieren sich die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen der Porenlösungen auf einen Wert von 0,04 mol/l. Demgegenüber weisen die Profile der funktionalisierten Matrixen einen deutlich abweichenden Verlauf auf. In den beiden untersuchten Copolymeren sind die Bereiche nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung gegenüber der Ausgangskonzentration des Überstands (0,10 mol/l) an  $\text{Ca}^{2+}$  angereichert (0,12 mol/l). Während die Steigung des Gradienten in poly-AAm-AC mit den Werten in Gelatinegel und poly-AAm übereinstimmt, verläuft die ortsaufgelöste Konzentrationsabnahme in dem Sulfonat-funktionalisierten Copolymer steiler. In 40 mm Entfernung von der Grenzfläche zur  $\text{CaCl}_2$ -Lösung enthält die Porenlösung des poly-AAm-AC 0,08 mol/l, die des poly-AAm-AMPS etwa 0,05 mol/l  $\text{Ca}^{2+}$ .



**Abbildung 6.6-1:**  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsprofile nach einer Woche Einfachdiffusion in Gelatinegel, poly-AAm, poly-AAm-AMPS und poly-AAm-AC; die Ausgangskonzentration des Überstands und der sigmoidale Kurvenverlauf sind gekennzeichnet.

Die sigmoidalen Konzentrationsprofile sind auf die Randbedingungen der Diffusion zurückzuführen. Bei fortgeschrittener Versuchsdauer nimmt die Konzentration des Überstands ab, so daß der  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt der Gelkörper nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung vergleichsweise niedrig ist. Außerdem entsprechen die Profile nach einer Woche Diffusionsdauer nicht mehr dem semi-infiniten Fall der Diffusion [Hen86]. Dies führt zu ungewöhnlich hohen Konzentrationen in größerer Entfernung von der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung. Vergleichbare sigmoidale Konzentrationsprofile werden nach 300 Stunden Diffusion von  $\text{Ba}^{2+}$  und  $\text{Sr}^{2+}$  in einem 300 mm langen Silicagelkörper beschrieben [Pri89]. Da sich die Randbedingungen während der Versuchsdauer kontinuierlich verändern, ist eine quantitative Auswertung der Diffusionsverhältnisse in diesen Fällen nicht möglich [Pri90].

Dennoch erlauben die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsprofile qualitative Aussagen zu der Wechselwirkung der organischen Matrix mit den diffundierenden Teilchen: Während der  $\text{Ca}^{2+}$ -Gehalt des unfunktionalisierten poly-AAm sowie des Gelatinegels in Segmenten nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung unterhalb der Konzentration des Überstands liegt, kommt es in den funktionalisierten Matrices zur Anreicherung von  $\text{Ca}^{2+}$ . Dieses entropisch ungünstige Phänomen ist auf die Immobilisierung der Ladungsträger an den polaren funktionellen Gruppen zurückzuführen. Im zeitlichen Verlauf des Versuchs diffundieren permanent Kationen in den Gelkörper, die Diffusion des an den polaren funktionellen Gruppen lokalisierten  $\text{Ca}^{2+}$  aus dem Copolymer in den Überstand ist jedoch stark eingeschränkt. Der Gehalt an derart „gebundenen“ Kationen ist auf die *Bindungskapazität* bzw. die Ladung der Funktionalität zurückzuführen. Da sowohl die Sulfonatgruppen als auch die Carboxylatgruppen einfach negativ geladen sind, ist die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration der Copolymere in einem Bereich nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung vergleichbar. Während jedoch Sulfonatgruppen eine hohe Affinität zu  $\text{Ca}^{2+}$  aufweisen [She84], ist die *Bindungskonstante* eines  $\text{Ca}^{2+}$ -Carboxylat-Komplexes vergleichsweise gering [Man01]. Dies führt zu weniger effektiver Immobilisierung der Kationen an Carboxylatgruppen und somit zu einer höheren  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in dem Gelkörper.

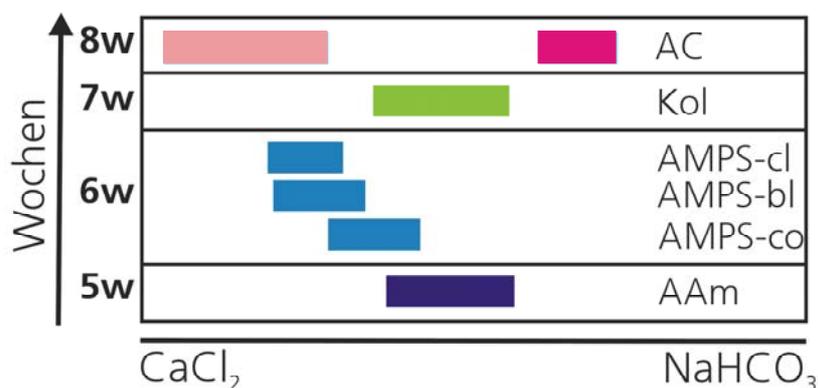
Die geringe Steigung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsprofile in poly-AAm und Gelatinegel sowie der Versatz der Konzentrationen im Gelkörper relativ zu dem Überstand sprechen gegen eine

Wechselwirkung der diffundierenden Kationen mit den Polymermatrices. Obwohl sich die Netzwerkstrukturen des Gelatinegels (physikalisches Gel) und des poly-AAm (kovalent vernetztes Gel) grundsätzlich unterscheiden, sind die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsprofile ähnlich. In Übereinstimmung mit den postulierten Kristallisationsmechanismen in Gelatinegel (vgl. 6.1.5) bzw. poly-AAm (vgl. 6.2.6) ist demnach keine wesentliche molekular-chemische Wechselwirkung mit den jeweiligen Gelmatrices nachzuweisen. Die chemischen Verhältnisse der Mineralisation in Gelatinegel bzw. poly-AAm sind unmittelbar vergleichbar.

### 6.6.2 Keimbildung

Eine wichtige Kenngröße der Kristallisation ist die Zeitdauer bis zur Bildung erster wachstumsfähiger Keime (Induktionszeit). Da diese kritischen Keime nur selten sichtbar gemacht werden können, wird als Näherung der Induktionszeit die Zeitspanne bis zur Entstehung erster, mit bloßem Auge sichtbarer Kristalle angegeben [Che84]. Die Länge der Gelkörper in der standardmäßig eingesetzten Doppeldiffusionsanordnung ist präparationsbedingt sowie infolge unterschiedlicher Quellungseigenschaften der Hydrogele Schwankungen unterworfen. Daher wurden die Induktionszeiten in einer abgewandelten Versuchsanordnung bestimmt (vgl. 4.3). Bei einer Länge der Gelkörper von 300 mm werden die Effekte der Matrices auf die Induktionszeit deutlich.

In Abbildung 6.6-2 sind die Orte der ersten Keimbildung sowie die korrespondierenden Induktionszeiten aufgetragen. In Gelatinegel, poly-AAm sowie den Sulfonat-funktionalisierten Copolymeren ist der Ort der ersten Kristallisation in Richtung der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung verschoben. Demgegenüber wachsen in der Carboxylat-funktionalisierten Matrix die ersten Makrokristalle in einem Bereich näher der  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung. Bei der Mineralisation in dem poly-AAm-AC-Copolymer müssen jedoch zwei Kristallgenerationen unterschieden werden: Eine erste Trübung des Copolymers setzt wenige Zentimeter von der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung entfernt ein und erstreckt sich im weiteren zeitlichen Verlauf der Doppeldiffusion nahezu über das gesamte Gelvolumen, erst deutlich später entstehen mit dem bloßen Auge zu unterscheidende Mineralisationsprodukte. Die Kristallisation dieser Makrokristalle geht mit einer Aufklärung der vorangegangenen Trübung einher.



**Abbildung 6.6-2:** Schematische Darstellung der Induktionszeiten und der Orte der ersten Kristallisation in den untersuchten Hydrogelen; die Darstellung basiert auf der Dokumentation optischer Beobachtungen.

Die Induktionszeiten in den verschiedenen Matrices liegen zwischen 4 und 8 Wochen. Bereits nach 4 Wochen kommt es zu der beschriebenen Trübung in einem poly-AAm-AC-Copolymer. Mit bloßem Auge sichtbare Makrokristalle entstehen jedoch erst nach etwa 8 Wochen. In unfunktionalisiertem poly-AAm sind nach 5 Wochen erste Mineralisationsprodukte sichtbar, Funktionalisierung des poly-AAm-Netzwerks mit Sulfonat-haltigen Monomeren (poly-AAm-AMPS) führt zu verzögertem Beginn der Kristallisation (6 Wochen). Die Quervernetzung der Sulfonatgruppen („Block“- bzw. „Cluster“-Copolymerisation) übt keinen signifikanten Effekt auf die Induktionszeiten aus. Die Bereiche der ersten Mineralisation sind jedoch, verglichen mit dem „statistisch“ copolymerisierten poly-AAm-AMPS, auf ein geringeres Gelvolumen beschränkt und der Ort der Mineralisation ist in Richtung der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung verlagert. Die Induktionszeit in einem Gelatinegel beträgt etwa 7 Wochen und liegt somit zwischen den Werten des poly-AAm-AMPS und des poly-AAm-AC. Die ersten Mineralisationsprodukte sind vereinzelt in einem relativ ausgedehnten Gelvolumen zu beobachten.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der  $\text{Ca}^{2+}$ -Diffusion (vgl. **6.6.1**) läßt sich die, verglichen mit poly-AAm, verlängerte Induktionszeit in poly-AAm-AMPS auf abweichende Konzentrationsverhältnisse während der Doppeldiffusion zurückführen. Die effektive Immobilisierung von  $\text{Ca}^{2+}$  an den Sulfonatgruppen bewirkt eine verzögerte Diffusion in dem Gelkörper. Die Anreicherung von  $\text{Ca}^{2+}$  nahe der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung erfordert einen längeren Diffusionsweg der  $\text{CO}_3^{2-}$ -Anionen, so daß die Induktionszeit verlängert ist und sich der Ort der ersten Keimbildung in Richtung der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung verlagert. Die Lage der ersten Mineralisation in „Block“- und „Cluster“-copolymerisierten Matrices entspricht einer besonders effektiven Immobilisierung der Kationen an quervernetzten Sulfonat-haltigen Monomeren.

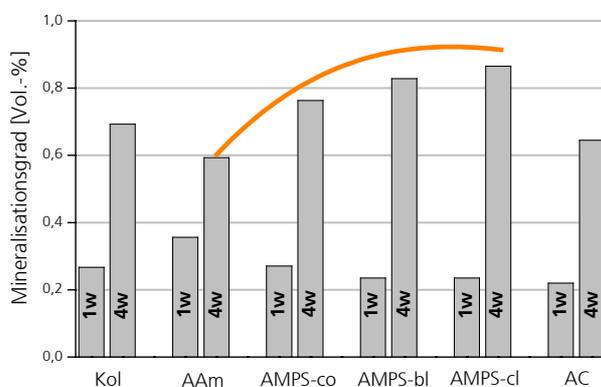
In poly-AAm-AC sind erste Makrokristalle deutlich später zu erkennen als in unfunktionalisiertem poly-AAm. Da sich die Steigungen der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationsprofile von poly-AAm-AC und poly-AAm nicht unterscheiden (vgl. **6.6.1**), ist die verlängerte Induktionszeit jedoch nicht auf die Immobilisierung von  $\text{Ca}^{2+}$  zurückzuführen. Stattdessen werden die Konzentrationsverhältnisse durch die initiale Kristallisation einer Vorläuferphase modifiziert. Mit fortgeschrittener Diffusionsdauer ist die Übersättigung soweit angestiegen, daß es zu Mineralisation der Makrokristalle kommt.

Obwohl die  $\text{Ca}^{2+}$ -Diffusionsverhältnisse in Gelatinegel und poly-AAm vergleichbar sind (vgl. **6.6.1**), bilden sich in Gelatinegel erste Kristalle deutlich später. Möglicherweise werden die Flächen der Keime durch adsorbierte Polymerstränge „vergiftet“, so daß das Wachstum dieser Keime zunächst unterbunden wird. Erst bei höheren Übersättigungen bilden sich wachstumsfähige Keime, die zu Makrokristallen auswachsen können. Diese postulierte Wechselwirkung polymerer Verunreinigungen auf einem initialen Keim entspricht den Überlegungen, die dem Kristallisationsmechanismus von  $\text{CaCO}_3$  in Gelatinegel zugrunde liegen (vgl. **6.1.5**): Adsorbierte Polymerstränge modifizieren das Flächenwachstum eines ersten Keimkristalls und führen zu eindimensionaler Verschiebung der Wachstumsfronten zahlreicher Kristallstengel.

### 6.6.3 Mineralisationsgrad

Da eine Quantifizierung der Materialabscheidung unter Verwendung eines Bildanalyzesystems nicht zu verwertbaren Ergebnissen führte, wurde der Mineralisationsgrad im folgenden gravimetrisch ermittelt. Aus dem Wägequotienten des Hydrogels mit der darin enthaltenen Kristallphase und der herausgelösten Kristalle errechnet sich der Mineralisationsgrad. Eine ortsaufgelöste Untersuchung führte zu unzureichend reproduzierbaren Ergebnissen, so daß der Mineralisationsgrad über den gesamten Gelkörper des jeweiligen Hydrogels gemittelt wurde.

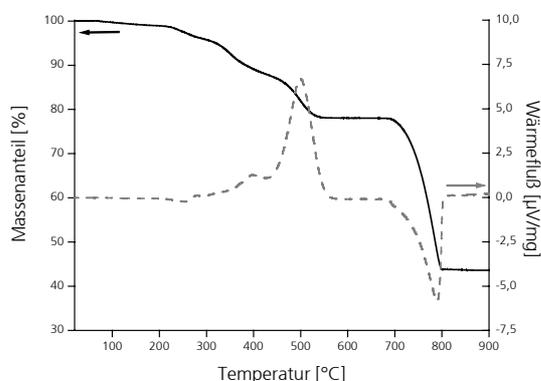
In Abbildung 6.6-3 ist der Mineralisationsgrad in den untersuchten Gelen nach einer bzw. vier Wochen Doppeldiffusion dargestellt. Bei Vergleich des unfunktionalisierten poly-AAm mit den funktionalisierten Hydrogelen fällt auf, daß die Funktionalisierung zu einem geringeren Mineralisationsgrad nach einer Woche Versuchsdauer führt. Nach vier Wochen sind jedoch die Sulfonat-funktionalisierten Copolymere durch einen deutlich höheren Mineralisationsgrad gekennzeichnet. Quervernetzung der funktionellen Gruppen („Block“- bzw. „Cluster“-Copolymerisation) resultiert in höheren Werten als „statistische“ Copolymerisation. Bei der Auswertung des Mineralisationsgrads in poly-AAm-AC müssen die Beiträge der beiden unterschiedlichen Kristallgenerationen berücksichtigt werden: Nach einer Woche wird der Gehalt der Vorläuferphase bestimmt, während nach vier Wochen Versuchsdauer die Masse der Calcit-Sphärolithe in die Berechnung eingeht. Die Werte der Materialabscheidung in einem Gelatinegel nehmen eine Zwischenstellung zwischen poly-AAm und poly-AAm-AMPS-Copolymeren ein.



**Abbildung 6.6-3:** Mineralisationsgrad in den untersuchten Hydrogelmatrixen nach einer und nach vier Wochen Doppeldiffusion. Die Zunahme des Mineralisationsgrads in Sulfonat-funktionalisierten Netzwerken nach vier Wochen Versuchsdauer ist hervorgehoben.

Nach einer Woche Versuchsdauer spiegelt der Mineralisationsgrad die Dauer der Mineralisation (bzw. die Induktionszeit) der untersuchten Hydrogele wieder. Da in poly-AAm die Induktionszeit am kürzesten ist, hat sich innerhalb einer Woche der vergleichsweise höchste  $\text{CaCO}_3$ -Gehalt abgeschieden. Mit fortgeschrittener Dauer gewinnt der Effekt der ionischen funktionellen Gruppen im Netzwerk an Bedeutung: Die Sulfonatgruppen der poly-AAm-AMPS-Copolymere bewirken eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Anreicherung in dem Gelkörper (vgl. 6.6.1) und führen somit zu einem höheren Mineralisationsgrad. Die vergleichsweise hohen Werte in „Block“- bzw. „Cluster“-copolymerisierten Matrixen weisen auf eine besonders effektive Immobilisierung von  $\text{Ca}^{2+}$  an quervernetzten Sulfonatgruppen hin.

Da die Absolutwerte des Mineralisationsgrads gering sind (unter einem Vol.-%), wurde in einer abgewandelten Versuchsanordnung ein oberer Grenzwert des Mineralisationsgrads in poly-AAM ermittelt. Zu diesem Zweck wurde eine nur 5 mm dicke Gelscheibe in eine Doppeldiffusionsanordnung eingebracht. Die Versuchsdauer erstreckte sich über 20 Wochen, wobei die Mineralisationslösungen jede Woche erneuert wurden. In dem gesamten Hydrogelkörper kommt es zu dichter Packung oktaedrischer Mineralisationsprodukte. Der Feststoffgehalt des mineralisierten Gelkörpers wurde thermogravimetrisch ermittelt (Abbildung 6.6-4). Die Thermogravimetrieurve weist einen mehrstufigen Verlauf auf. Analog zu den Untersuchungen des Kompositcharakters isolierter Mineralisationsprodukte (vgl. **6.1.2** und **6.2.2**) wird bis etwa 150°C adsorptiv gebundenes Wasser freigesetzt. Eine weitere Massenabnahme in einem Intervall von 200 - 400°C entspricht der für Kompositpartikel beschriebenen Zersetzung inkorporierter organischer Matrix. Zwischen 400 und 550°C nimmt, verbunden mit einer exothermen Zersetzungsreaktion, die Masse der Probe erneut deutlich ab. Dies korrespondiert mit der Oxidation des kompakten poly-AAM zwischen den Mineralisationsprodukten. Oberhalb 700°C zersetzt sich in einer endothermen Reaktion  $\text{CaCO}_3$  zu  $\text{CaO}$  („Kalkbrennen“). Aus der Massenabnahme durch Oxidation des kompakten poly-AAM bzw. aus den Werten der Zersetzung des  $\text{CaCO}_3$  errechnet sich ein Massenanteil der Kristallphase in dem Gelkörper von 79,4 Gew.-%. Unter Einbeziehung der Dichten von Calcit ( $2,72 \text{ g/cm}^3$ ) und poly-AAM ( $1,13 \text{ g/cm}^3$ ) ergibt sich ein Mineralisationsgrad des Gelkörpers von 61,6 Vol.-% als oberer Grenzwert der Materialabscheidung von  $\text{CaCO}_3$  in poly-AAM.



**Abbildung 6.6-4:** Thermoanalyse eines mineralisierten Gelkörpers nach 20 Wochen Versuchszeit.

### 6.6.4 Zusammenfassung

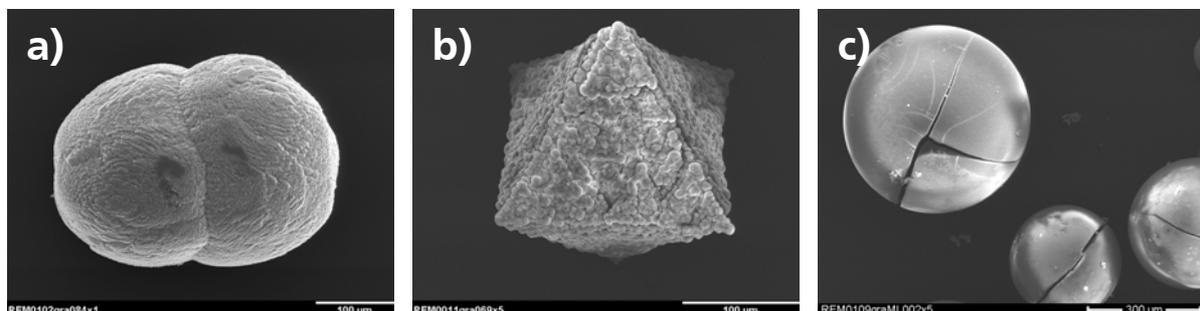
Während die  $\text{Ca}^{2+}$ -Diffusion in Gelatinegel und poly-AAM nicht durch elektrostatische Wechselwirkungen beeinträchtigt wird, ist in den funktionalisierten Matrices eine Anreicherung von  $\text{Ca}^{2+}$  zu beobachten. Die unterschiedlichen Steigungen der Konzentrationsprofile in poly-AAM-AMPS und poly-AAM-AC beruhen auf den jeweiligen Affinitäten der funktionellen Gruppen zu  $\text{Ca}^{2+}$ . Die Modifikation der Konzentrationsverhältnisse spiegelt sich in den Induktionszeiten der Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  wieder. In Gelatinegel wird die Kristallisation zunächst durch Adsorption von Polymersträngen auf initialen Keimen unterdrückt. Nach vier Wochen Versuchszeit stellt sich in der „Cluster“-copolymerisierten poly-AAM-AMPS-Matrix der höchste Mineralisationsgrad ein. Ein deutlich höherer Wert ergibt sich durch wiederholte Erneuerung der Mineralisationslösungen in einem schmalen Gelkörper.

## 7. Vergleichende Diskussion

Die Ergebnisse der Mineralisationsversuche in unterschiedlichen Hydrogelmatrices belegen einen wesentlichen Effekt der organischen Matrix auf die Abscheidung der anorganischen Phase. Um allgemeine Prinzipien dieser Wechselwirkung zu bewerten, sollen die Ergebnisse der Versuche in den unterschiedlichen Matrices vergleichend diskutiert werden. Aus den Untersuchungen der Materialabscheidung in den biomimetischen Modellsystemen ergeben sich Rückschlüsse auf die Biomineralisation.

### 7.1 Mineralisation in Hydrogelmatrices

Typische Mineralisationsprodukte der untersuchten Gelsysteme weisen augenfällige Unterschiede auf (Abbildung 7-1): Während in dem „naturnahen“ Gelatinegel Produkte mit hantelähnlicher Morphologie kristallisieren, entstehen in dem künstlichem Referenzsystem (poly-AAm) oktaedrische Aggregate. Die Mineralisationsprodukte aus Sulfonat-funktionalisierten Copolymeren unterscheiden sich nicht grundsätzlich von den Produkten des poly-AAm, die Carboxylatgruppen des poly-AAm-AC bewirken jedoch eine wesentliche Veränderung der Kristallisation. Es sind zwei Einflußgrößen auf die Materialabscheidung zu unterscheiden: Während die Carboxylatgruppen die Keimbildung der anorganischen Phase beeinflussen, ist die Mineralisation in Gelatinegel und poly-AAm maßgeblich von der physikalischen Netzwerkstruktur des Kristallisationsmediums bestimmt.



**Abbildung 7-1:** Typische Mineralisationsprodukte aus Gelatinegel (a), unfunktionalisiertem poly-Acrylamid (b) und Carboxylat-funktionalisiertem Copolymer (c).

#### 7.1.1 Netzwerkeffekte

In Abwesenheit organischer Additive kristallisiert Calcit aus verdünnten wäßrigen Lösungen in der rhomboedrischen Gleichgewichtsform [Ree83]. Das Kristallwachstum hantelähnlicher Mineralisationsprodukte in Gelatinegel (vgl. 6.1) ist, ebenso wie die Aggregation in poly-AAm (vgl. 6.2), auf einen initialen rhomboedrischen Keimkristall zurückzuführen. Demnach wird in diesen Hydrogelmatrices die *Keimbildung* der anorganischen Phase kaum beeinflusst. Die makroskopischen Mineralisationsprodukte unterscheiden sich jedoch deutlich von der Gleichgewichtsform des Calcits, was auf einen Effekt der organischen Matrix auf das *Kristallwachstum* zurückzuführen ist.

### ***Heterogenes Kompositgefüge***

Gelatinegel besteht aus verknäulten Polymersträngen (physikalisches Gel) [Str96], die sich während der Kristallisation parallel der Wachstumsrichtung „eindimensionaler“ Kristallstengel ausrichten. Ausgehend von einem initialen rhomboedrischen Keimkristall werden die Wachstumsfronten aufgefächert. Aus sterischen Gründen kommt es schließlich zu Verzwilligung des makroskopischen Produkts. Der morphogenetische Effekt der Gelatinegel-Matrix ist somit lediglich auf eine physikalische Wechselwirkung mit der anorganischen Phase zurückzuführen. Allerdings wird dieser Effekt von den jeweiligen lokalen chemischen Bedingungen in der Doppeldiffusionsanordnung überlagert. Zwar finden sich in dem gesamten Gelkörper verzwilligte Mineralisationsprodukte, die feinere Ausgestaltung der Produkte ist jedoch von dem Ort der Kristallisation innerhalb des Gelkörpers abhängig. Die Erscheinungsform der makroskopischen Mineralisationsprodukte geht auf das Wechselspiel der lokalen chemischen Verhältnisse und der heterogenen Inkorporation des Kristallisationsmediums zurück.

Die beobachtete hantelähnliche Morphologie der Mineralisationsprodukte aus Gelatinegel ist nicht spezifisch für das untersuchte System [McC74, Fer96]. Offenbar ist eine hantelähnliche Morphologie eine generelle Erscheinungsform des Calcits in gelartigen Medien. Es erscheint plausibel, daß die Morphogenese in derartigen Systemen ebenso auf die Inkorporation des Kristallisationsmediums zurückzuführen ist. Bei der Kristallisation von Fluorapatit in Gelatinegel entstehen Aggregate, die auf den ersten Blick den Calcit-Produkten ähneln [Kni96, Bus03]. Allerdings wird die Kristallisation der Fluorapatit-Hanteln auf eine spezifische Wechselwirkung der Kristallphase mit der Kollagen-Matrix zurückgeführt. Elektrische Felder in der polaren Struktur des Komposits führen zu einem fraktalen Wachstumsprozeß, so daß schließlich hantelähnliche Aggregate entstehen [Bus99]. Der Vergleich früher Wachstumsphasen der Calcit-Produkte und der Fluorapatit-Aggregate schließt jedoch einen vergleichbaren Kristallisationsmechanismus aus.

### ***Kompartimenteffekt***

Im Gegensatz zu Gelatinegel besteht poly-AAm aus kovalent gebundenen Monomeren (chemisches Gel), die ein vergleichsweise rigides Netzwerk bilden. Innerhalb dieser maschenartigen Netzwerkstruktur [Rüc78] bilden sich naheordnete  $\text{CaCO}_3$ -Cluster, die zu einem makroskopisch einkristallinen Aggregat verwachsen. Die rhomboedrische Form der Subkristalle widerlegt eine chemische Wechselwirkung der Gelmatrix mit der anorganischen Phase. Stattdessen stellt sich, aufgrund der eingeschränkten Konnektivität der physikalischen Netzwerkstruktur, eine hohe effektive Übersättigung in der Porenlösung ein. Der kritische Keimradius ist deutlich herabgesetzt, so daß zahlreiche homogene Keime in den Kompartimenten des poly-AAm entstehen. Schließlich kommt es zu heterogener Keimbildung dieser vorgeformten Wachstumspakete auf dem wachsenden Aggregat.

Neben den spezifischen Übersättigungsverhältnissen dürfte die Mineralisation in poly-AAm auch von einem „formgebenden“ Effekt der Porenstruktur geprägt sein: Die einzelnen Cluster

entstehen in individuellen Kompartimenten des Netzwerks, ein weiteres Wachstum wird durch das rigide Netzwerk unterdrückt. Diese vorgeformten Wachstumseinheiten sind in dem kovalent vernetzten Polymer immobilisiert. In Kontakt mit der Oberfläche eines wachsenden Aggregats ist die Oberflächendiffusion zu energetisch günstigen Halbkristallagen [Kos27] eingeschränkt. Statt der rhomboedrischen Gleichgewichtsform entsteht ein oktaedrisches Aggregat.

Es ist bemerkenswert, daß die Morphologie der Produkte aus poly-AAm von dem Ort der Kristallisation innerhalb des Gelkörpers unabhängig ist. Auch in deutlich abgewandelten Versuchsanordnungen entstehen oktaedrische Aggregate (vgl. **6.2.6**). Im Gegensatz zu den Verhältnissen in Gelatinegel werden die lokalen chemischen Bedingungen von der Wirkungsweise des Netzwerks dominiert.

### 7.1.2 Wirkungsweise funktioneller Gruppen

Neben den physikalischen Netzwerkeffekten wird die Materialabscheidung von funktionellen Gruppen der Hydrogelmatrix beeinflusst. Dabei ist der Effekt der räumlichen Anordnung funktioneller Sulfonatgruppen sowie die spezifische Wechselwirkung der Carboxylatgruppen mit der Kristallphase zu diskutieren.

#### **Anordnung funktioneller Gruppen**

Gemäß einem „ionotropen Modell“ [Gre84, Cal96] wird die Keimbildung in biologischen Systemen durch die lokale Akkumulation ionischer funktioneller Gruppen innerhalb der organischen Matrix begünstigt. Infolge elektrostatischer Wechselwirkungen nimmt die Dichte positiver Ladungsträger bzw. die Übersättigung in diesen Bereichen zu, so daß es zu bevorzugter Keimbildung kommt [Man01]. Tatsächlich ist in poly-AAm-AMPS-Copolymeren, die durch lokale Akkumulation der funktionellen Sulfonat-Monomere gekennzeichnet sind („Block“- und „Cluster“-copolymerisiert), eine höhere Keimdichte zu beobachten (vgl. **6.3.3**).

Es konnte nachgewiesen werden, daß eine lokale Akkumulation der AMPS-Monomere zu besonders effektiver Immobilisierung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Kationen und somit zu einem höherem Mineralisationsgrad führt (vgl. **6.6**). Allerdings gleichen sich die Mineralisationsprodukte aus poly-AAm-AMPS-Copolymeren mit unterschiedlicher Netzwerktopographie. Der Kristallisationsmechanismus wird durch die lokale Akkumulation der ionischen Funktionalitäten nicht beeinflusst. Sowohl die Mineralisationsprodukte aus „statistisch“ copolymerisierten Hydrogelen als auch die Produkte aus „Block“- und „Cluster“-copolymerisierten Matrices weisen deutliche Gemeinsamkeiten mit den oktaedrischen Aggregaten aus unfunktionalisiertem poly-AAm auf. Der Aggregationsmechanismus in den poly-AAm-AMPS-Copolymeren ist durch die veränderten Konzentrationsverhältnisse in dem Gelkörper nur geringfügig modifiziert.

### ***Wirkungsweise der Carboxylatgruppen***

Im Gegensatz zu der Mineralisation in poly-AAm-AMPS bewirkt die Funktionalisierung mit Carboxylatgruppen eine drastische Veränderung des Kristallisationsmechanismus (vgl. 6.5). In einem poly-AAm-AC-Netzwerk bilden sich zunächst zahlreiche Vaterit-Partikel, die sich im Verlauf der Doppeldiffusion in den thermodynamisch stabilen Calcit umwandeln.

Die intermediäre Stabilisierung des Vaterits kennzeichnet eine spezifische Wechselwirkung der Carboxylatgruppen mit der Kristallphase. Offenbar wird die metastabile Phase zunächst kinetisch stabilisiert: Da das Löslichkeitsprodukt des Calcits ( $pK_1 = -8,42$ ) deutlich geringer ist als die Löslichkeit des Vaterits ( $pK_1 = -7,60$ ) [Hol95], ist bei gegebener Konzentration einer Elektrolytlösung das Übersättigungsniveau des Calcits höher als der entsprechende Wert der metastabilen Phase. Im thermodynamischen Gleichgewicht würde es schließlich zu Kristallisation von Calcit kommen. Die polymorphe Selektivität kann jedoch durch kinetische Faktoren beeinflusst werden. Da die freie Enthalpie der Keimbildung eine Funktion der Grenzflächenenergie der Kristallphase ist [Kle90], können Grenzflächeneffekte die Keimbildung einer thermodynamisch metastabilen Modifikation begünstigen.

In der Biomineralisation wird vielfach die Kristallisation der metastabilen  $\text{CaCO}_3$ -Modifikationen Aragonit und Vaterit beobachtet [Low75, Wei84]. Bei derartigen Prozessen kommt den Carboxylatgruppen der organischen Matrix eine prominente Funktion zu. S. Mann beschreibt als ein grundsätzliches Konzept der Biomineralisation die molekulare Oberflächenerkennung („interfacial molecular recognition“) als eine Grenzflächen-Wechselwirkung ionischer funktioneller Gruppen mit der anorganischen Phase [Man96]. Offenbar wird die Grenzflächenenergie des Vaterits durch die Carboxylatgruppen in dem Copolymer-Netzwerk herabgesetzt. Die funktionellen Gruppen wirken als Keimbildungszentren, so daß zahlreiche feinkristalline Präzipitate entstehen und zu einer „nebelartigen“ Trübung des Gelkörpers führen. Die regellos in dem Copolymer-Netzwerk angeordneten Acrylat-Monomere ermöglichen jedoch lediglich die intermediäre Stabilisierung der metastabilen Phase. Bei fortschreitender Doppeldiffusion steigt die Übersättigung in dem Gelkörper und die kinetischen Grenzflächeneffekte treten in den Hintergrund. Schließlich „kippt“ das System in den thermodynamisch stabilen Zustand.

Die Untersuchungen belegen, daß die *Keimbildung* in Carboxylat-funktionalisierten Copolymeren durch einen Prozeß der molekularen Oberflächenerkennung [Man96] bestimmt ist, das Kristallwachstum ist jedoch von dem Kristallisationsmedium unbeeinflusst. In dieser Hinsicht sind die Kristallisationsmechanismen in Gelatinegel und poly-AAm-AC komplementär: Die *Keimbildung* in Gelatinegel entspricht den thermodynamischen Gleichgewichtsbedingungen, das *Kristallwachstum* wird durch die Verwachsung der organischen Phase mit der Kristallphase beeinflusst. Obwohl die physikalische Netzwerkstruktur des poly-AAm-AC und des unfunktionalisierten poly-AAM ähnlich ist, tritt der physikalische Netzwerkeffekt bei der Mineralisation in poly-AAm-AC nicht in Erscheinung. Die Aggregation der oktaedrischen Produkte in poly-AAm setzt die Bildung vorgeformter rhomboedrischer Keimkristalle voraus. In poly-AAm-AC bilden sich zunächst sphärische Vaterit-Kristalle, so daß ein grundsätzlich

abweichender Kristallisationsmechanismus wirksam ist. Im Verlauf der spät einsetzenden sphärolithischen Kristallisation wird die organische Matrix volumenkonform und homogen in die makroskopischen Mineralisationsprodukte inkorporiert. Eine Wechselwirkung der wachsenden Kristallphase mit der organischen Matrix ist nicht zu beobachten.

### **Vergleich der Wirkungsweise von Sulfonat- und Carboxylatgruppen**

Wie der Vergleich der Mineralisation in poly-AAm-AMPS und poly-AAm-AC nahelegt, wird die Grenzflächenenergie erster Keime nicht durch das schlichte Vorliegen negativer Ladungsträger in dem Netzwerk herabgesetzt. Die stark polaren Sulfonatgruppen bewirken lediglich eine Modifikation der lokalen Übersättigungsverhältnisse, der Kristallisationsmechanismus entspricht jedoch den Verhältnissen des unfunktionalisierten poly-AAm. Demgegenüber wechselwirken die Carboxylatgruppen spezifisch mit der abgeschiedenen Kristallphase. Heywood *et al.* erklären die Wirkungsweise von Carboxylatgruppen auf die Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  durch die stereochemische Ähnlichkeit der Carbonationen und der Carboxylatgruppen [Hey00]. Sowohl Sulfonat- als auch Carboxylatgruppen in dem Copolymer-Netzwerk führen zu einer Anreicherung von  $\text{Ca}^{2+}$ . Carboxylatgruppen in Nachbarschaft von  $\text{Ca}^{2+}$ -Kationen stellen jedoch bereits ein erstes Motiv des kristallisierenden  $\text{CaCO}_3$  dar. Dadurch kann die Keimbildungsarbeit reduziert werden und die kinetisch begünstigte Kristallisation von Vaterit erfolgen.

Neben diesem stereochemischen Effekt wird die Kristallisation durch unterschiedliche Affinitäten des  $\text{Ca}^{2+}$  zu Sulfonat- bzw. Carboxylatgruppen geprägt [Add92]: Um ein Kristallgitter aufzubauen, müssen sich die jeweiligen Gitterbausteine ( $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{CO}_3^{2-}$ ) in einer dreidimensionalen Struktur organisieren. Dies setzt eine gewisse Mobilität der Kationen voraus. Die starke Bindung der  $\text{Ca}^{2+}$ -Kationen an die Sulfonatgruppen steht dieser räumlichen Organisation entgegen, so daß es lediglich zu einer ungeordneten Akkumulation der Kationen in Nachbarschaft der funktionellen Gruppen kommt. Demgegenüber ist die Affinität des  $\text{Ca}^{2+}$  zu Carboxylatgruppen deutlich geringer, so daß sich die akkumulierten Ladungsträger in einem  $\text{CaCO}_3$ -Kristallgitter organisieren können. Generell ist der Effekt auf die Kristallisation für Funktionalitäten mit hoher Bindungskapazität und geringer Affinität besonders ausgeprägt [Man01]. Dies ermöglicht sowohl eine Akkumulation der Gitterbausteine als auch die Ausbildung eines dreidimensional-periodischen Kristallgitters.

### **Nicht-kollagene Proteine**

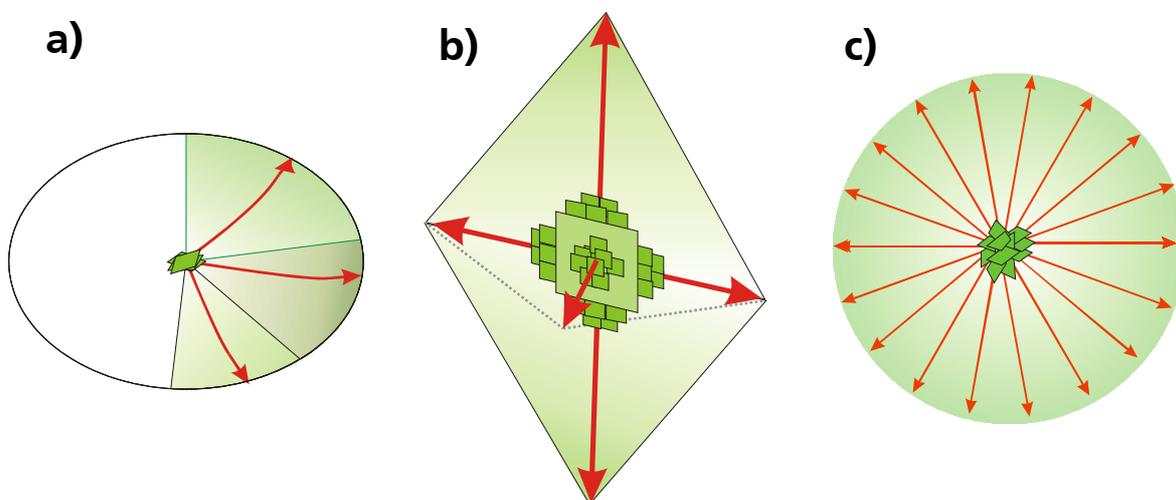
Aspartat-haltigen Matrixmolekülen wird eine zentrale Bedeutung bei natürlichen Biomineralisationsprozessen zugeschrieben [Low89, Add92]. Es sind daher zahlreiche Mineralisationsversuche mit poly-L-Asp als biologische Modellsubstanz dokumentiert [Sch71, Kuh94, Sim95, Bos96]. Falini *et al.* beschreiben die polymorphe Selektivität von  $\text{CaCO}_3$  in Abhängigkeit von der Additiv-Konzentration in einem Gelatine-Xerogel [Fal00]. In der Umgebung des poly-L-Asp stellt sich eine hohe Übersättigung ein, so daß sich Keime des leicht löslichen Vaterits bilden können. Neben diesem thermodynamischen Effekt werden auch

kinetische Einflüsse auf die Präzipitation der metastabilen Phase diskutiert: Poly-*L*-Asp bildet in wässrigen Lösungen in Gegenwart von  $\text{Ca}^{2+}$ -Kationen eine  $\beta$ -Faltblattstruktur, die ein zweidimensionales Templat der biomimetischen Kristallisation darstellt [Man93]. Die strukturelle Verwandtschaft der (lokal) zweidimensional-periodischen  $\beta$ -Faltblattstruktur und dem Kristallgitter des Vaterits erniedrigt die Grenzflächenenergie der metastabilen Phase und begünstigt somit die Kristallisation [Fal98].

Während sich Vaterit in einem Carboxylat-funktionalisiertem Copolymer im Verlauf der Doppeldiffusion in Calcit umwandelt, wird die metastabile Phase in Gegenwart des Additivs permanent stabilisiert. Die statistisch in dem Copolymernetzwerk verteilten Carboxylatgruppen begünstigen die Keimbildung des Vaterits, die Umwandlung in Calcit wird jedoch nicht unterbunden. Die stabilisierende Wirkung des poly-*L*-Asp scheint hingegen auf die Ausdehnung des Moleküls zurückzuführen zu sein. Als Bestandteil der Porenlösung kann das Additiv die gebildeten Vaterit-Partikel umschlingen und somit die Oberfläche des Vaterits passivieren. Da die Phasenumwandlung von Calcit zu Vaterit von der Oberfläche der metastabilen Phase ausgeht [Kit01], wird auf diese Weise der Phasenübergang effektiv inhibiert. Demnach ist die Wirkungsweise des poly-*L*-Asp ambivalent: Auf der einen Seite begünstigen die Carboxylatgruppen die Keimbildung des Vaterits (Nukleator), auf der anderen Seite wird die Phasenumwandlung zu Calcit durch die in der Porenlösung mobilen Polymerstränge unterbunden (Inhibitor).

### 7.1.3 Kristallisationsmechanismen

Obwohl die Rahmenbedingungen der Mineralisationsexperimente in den untersuchten Hydrogelen identisch sind, entstehen deutlich unterschiedliche Produkte. Es können drei spezifische Kristallisationsmechanismen in den jeweiligen Gelsystemen (Abbildung 7-2) sowie die Agglomeration sphärischer Vaterit-Partikel in Anwesenheit von poly-*L*-Aspartat unterschieden werden.



**Abbildung 7-2:** Schematische Darstellung der Kristallisationsmechanismen in Gelatinegel (a), unfunktionalisiertem poly-Acrylamid (b) und Carboxylat-funktionalisiertem Copolymer (c).

### **Lagenweises Wachstum**

Die Kristallisation in Gelatinegel entspricht den klassischen Vorstellungen des Kristallwachstums [Bur51]: Atomare Bausteine diffundieren zu energetisch günstigen Positionen auf der wachsenden Kristallfläche [Kos27], ein lagenweises Flächenwachstum dominiert. Dies ist der häufigste Kristallisationsmechanismus in der unbelebten Natur [Rös91]. Häufig entstehen idiomorphe, polyedrische Kristalle.

Die heterogene Verwachsung der Kristallphase mit den organischen Polymersträngen führt lediglich zu einer passiven Veränderung der makroskopischen Morphologie, der Kristallisationsmechanismus ist von der Inkorporation nicht beeinflusst. In Abbildung 7-2a ist der Kristallisationsmechanismus des  $\text{CaCO}_3$  in einem Gelatinegel schematisch dargestellt: Ausgehend von den „Flächen“ eines rhomboedrischen Keimkristalls wachsen aufgefächerte Bereiche, die sich im Verlauf des Kristallwachstums jeweils paarweise zu einem verzwilligten Makrokristall orientieren. Die Drillingsstruktur ist noch nicht im Keimkristall angelegt, sondern erfolgt im Verlauf des Kristallwachstums.

### **Aggregation**

Der Kristallisationsmechanismus in poly-AAm beruht auf der simultanen Aggregation vorgeformter Wachstumseinheiten und dem Flächenwachstum dieser Cluster zu rhomboedrischen Subkristallen [Gra03a]. In der schematischen Darstellung des Aggregationsmechanismus (Abbildung 7-2b) geht das Kristallwachstum von einem rhomboedrischen Keimkristall aus. Durch Anlagerung rhomboedrischer Wachstumspakete auf den Flächen des Keimkristalls entsteht ein (pseudo-)oktaedrisches Aggregat.

In der Literatur ist ein derartiges Aggregationsmodell bisher nicht postuliert. Allerdings beschreiben auch Dominguez Bella und Garcia-Ruiz vergleichbare Phänomene bei der Kristallisation von Calcit in Silicagelen bei hohen pH-Werten [Dom86]. Die beobachtete „sheaf of the wheat“-Morphologie wird auf die Aggregation einzelner Rhomboeder entlang der c-Achse des Calcits zurückgeführt. J. Banfield *et al.* beschreiben eine Aggregations-basierte Selbstorganisation nanoskaliger Partikel bei der Mineralisation von Eisenhydroxid [Ban00]. Dabei kommt es zu orientierter Verwachsung diskreter, vorgeformter Untereinheiten. Vergleichbare Phänomene werden zu Beginn der hydrothermalen Kristallisation von ZnS beobachtet [Hua03]. Bei der Bildung von  $\text{TiO}_2$ -Nanokristallen ist eine parallele Ausrichtung durch Rotation individueller Partikel zu beobachten. Mit hochauflösender Transmissionselektronenmikroskopie kann die Einregelung der Partikel-Netzebenen abgebildet werden [Ali00, Zha02]. Die Morphogenese von  $\text{CaCO}_3$  in Anwesenheit polymerer Additive wird auf die Akkumulation der Fehlorientierung aggregierter Wachstumseinheiten zurückgeführt [Cöl01]. H. Cölfen und S. Mann beschreiben die Aggregation vorgeformter Bausteine als ein grundsätzliches Prinzip, das mit den klassischen Mechanismen des Kristallwachstums konkurriert [Cöl03]. Offensichtlich werden Kristallisationsmodelle, die auf der Aggregation nanoskaliger Wachstumspakete beruhen, die klassischen Vorstellungen des lagenweisen Kristallwachstums ergänzen. In dieser

Hinsicht ist die Kristallisation der oktaedrischen Mineralisationsprodukte aus poly-AAm ein anschauliches Beispiel der Aggregations-basierten Kristallisation.

### **Sphärolithische Kristallisation**

Die modifizierten Übersättigungsverhältnisse in poly-AAm-AC führen zu schneller Kristallisation großer sphärolithischer Körper (Abbildung 7-2c). Sphärolithische Kristallisation ist ein häufig beobachteter Mechanismus, der in übersättigten Systemen ein raumgreifendes Kristallwachstum ermöglicht [Sea61, Add92]. Bei der Mineralisation von Vogeleiern muß innerhalb weniger Stunden neues Schalenmaterial entstehen, so daß sphärolithische Kristallisation erfolgt [Sil86].

Dabei muß die Aktivierungsenergie zur Bildung eines geordneten Keims nicht aufgebracht werden. Die Oberflächenenergie eines hydratisierten, ungeordneten Keims ist relativ gering, allerdings ist ebenso der Beitrag der freiwerdenden Gitterenergie reduziert [Man01]. Ausgehend von dem ungeordneten Keim wachsen „eindimensionale“ Kristallfasern radialsymmetrisch in alle Raumrichtungen [Sea61]. Die Wachstumsrichtung der Mineralisationsprodukte aus poly-AAm-AC verläuft längs der kristallographischen c-Achse des Calcits. Dies entspricht der bevorzugten Orientierung bei der Mineralisation von Eierschalen.

Die Mineralisationsprodukte aus Gelatinegel weisen ebenso wie Sphärolithe ein radialstrahliges Gefüge auf. Allerdings ist die Kristallphase nicht radialsymmetrisch orientiert, im Polarisationsmikroskop ist eine bereichsweise Auslöschung zu beobachten. Es handelt sich daher nicht um einen sphärolithischen Kristallisationsmechanismus.

### **Agglomeration**

In Gegenwart von poly-L-Aspartat agglomerieren in Gelatinegel und poly-AAm sphärische Primärpartikel zu makroskopischen Körpern. Die kolloidale Form der Agglomerate weist Ähnlichkeiten mit Mineralen auf, die aus einer gelartigen Vorläuferphase kristallisiert sind. Der Kristallisation von Malachit oder des glaskopffartig erstarrten Hämatits geht die Fällungsreaktion einer amorphen Phase voraus [Rös91]. Es ist durchaus vorstellbar, daß die Vaterit-Agglomerate ebenso aus amorphem  $\text{CaCO}_3$  hervorgehen. Kuhn *et al.* beschreiben die initiale Bildung amorphen Calciumcarbonats (ACC) in alkalischen Lösungen bei hoher Übersättigung [Kuh94]. Dabei kommt es innerhalb weniger Sekunden zu Rekristallisation kolloidaler Vaterit-Agglomerate.

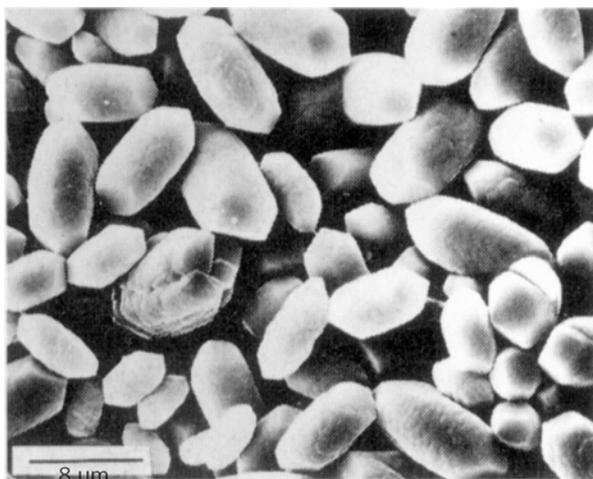
## 7.2 Rückschlüsse auf die Biomineralisation

Natürliche Biomineralisationsprozesse werden maßgeblich von der Wechselwirkung einer gelartigen, organischen Matrix mit der abgeschiedenen Kristallphase geprägt [Low89, Add92]. Die Ergebnisse der Mineralisationsversuche in den unterschiedlichen Hydrogelmatrices belegen den deutlichen Einfluß der biomimetischen Modellsubstanz auf die Materialabscheidung. Von dem Vergleich der Mineralisation in den Modellsystemen mit natürlichen Biomineralisationsprozessen sind daher wertvolle Rückschlüsse auf allgemeine Prinzipien der Biomineralisation zu erwarten.

### 7.2.1 Gelatinegel

Für reine Kollagenmatrices konnte zumindest keine starke spezifische Wechselwirkung der biogenen Matrix mit dem mineralisierenden Produkt festgestellt werden. Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß die Fibrillenstruktur des Proteins zunächst einmal nur ein Reaktionsvolumen vorgibt, in dem sich ein unspezifisches chemisches Milieu einstellt. Unter analogen physiko-chemischen Bedingungen können auch in anderen (anorganischen) Mineralisationsmedien vergleichbare Produkte entstehen [McC74, Fer96].

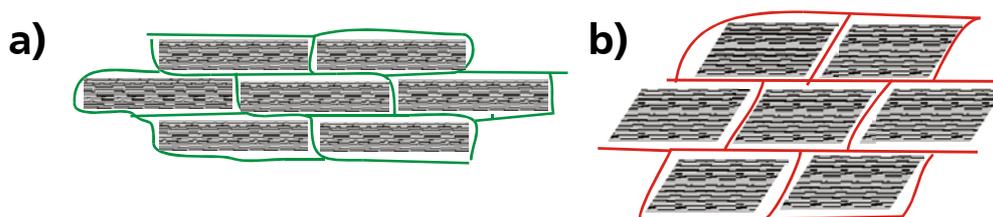
Allerdings weisen das radialstrahlig-stengelige Gefüge sowie die dreizählige Symmetrie der Mineralisationsprodukte bemerkenswerte Analogien zu Biomineralen auf. Die in dem Gleichgewichtsorgan von Säugetieren mineralisierten Otokonien [Man83, Lin00] ähneln den Mineralisationsprodukten aus Gelatinegel (Abbildung 7-3). Nach selektiver Lösung der Kristallphase mit verdünnter HCl verbleibt ein organisches Negativ [Lim84], das dem organischen Rückstand nach Komplexierung der biomimetischen Mineralisationsprodukte mit EDTA-Lösung entspricht (vgl. 6.1.2). Diese Ähnlichkeit weist darauf hin, daß auch Biomineralisationsprozesse lediglich Folge eines unspezifischen chemischen Milieus sein können. Möglicherweise ist die Entstehung einiger Biominerale unspektakulärer als gemeinhin angenommen. In derartigen Fällen würde die organische Matrix genau die Verhältnisse einstellen wie sie (zufällig) auch in rein anorganischen Systemen möglich sind.



**Abbildung 7-3:** Calcit-Kristalle (Otokonien) aus dem menschlichen Innenohr (aus [Man01]).

### 7.2.2 poly-Acrylamid

Die aus poly-Acrylamid isolierten Calcit-Aggregate lassen deutliche Analogien zum Aufbau natürlicher Biomineralisationsprodukte erkennen: Vergleichbar den oktaedrischen Aggregaten weisen Seeigel-Stachel eine einkristalline Mosaikstruktur auf [Tsi93]. Das biologische Kompositmaterial besteht aus etwa 200 nm großen Kristalliten, die kohärenten Blöcke sind um  $0,13^\circ$  gegeneinander verkippt [Wei00]. Analog den Verhältnissen der oktaedrischen Mineralisationsprodukte befindet sich die organische Matrix zwischen den einzelnen Blöcken. Auch in menschlichen Knochen [Wei99] und in der Perlmuttertschicht von Muscheln [Sar95] sind kristalline Bausteine geordnet mit einer organischen Matrix verwachsen (Abbildung 7-4).



**Abbildung 7-4:** Schematische Gegenüberstellung der Anordnung von Aragonit-Plättchen in der extrazellulären Matrix des Perlmutterts (nach [Sar95]) (a) und der Calcit-Subkristalle der Oktaeder aus poly-Acrylamid (b).

Während sich die oktaedrischen Aggregate aus rhomboedrischen Calcit-Untereinheiten zusammensetzen, besteht Perlmutter aus Aragonit-Plättchen. In der Regel weist das orthorhombische Aragonit einen nadeligen Habitus längs der c-Achse auf [Rös91]. Die zweidimensional-periodische Anordnung saurer Makromoleküle begünstigt jedoch die Bildung plättchenförmiger Kristalle. Die einzelnen Aragonit-Kristalle sind von einer organischen Hülle eingefaßt. Innerhalb der Kristalle sind keine organischen Bestandteile nachweisbar. Die Dicke der Plättchen wird durch organische Membranen in einem Abstand von etwa 500 nm vorgegeben [Wat65]. Diese organischen Membrane bestehen aus Seiden-ähnlichen Proteinen, die eine antiparallele  $\beta$ -Faltblattstruktur aufweisen. Levi-Kalishmann *et al.* gehen jedoch davon aus, daß sich diese Struktur erst im Verlauf der Mineralisation ausbildet, vor der Mineralisation liegt die organische Matrix als gequollene Gelphase vor [Lev01]. In Gastropodenschalen wird die Kristallisation in aufeinanderfolgenden Lagen durch „Mineralbrücken“ generiert [Sch97]. Dabei wachsen die Aragonit-Plättchen durch Nanoporen der organischen Membran und bewirken so die orientierte Keimbildung in einer neuen Lage.

Die strukturellen Ähnlichkeiten der synthetischen Calcit-Oktaeder und der Perlmuttertschicht kennzeichnen vergleichbare Mechanismen der Genese. Die Aggregation der oktaedrischen Produkte wird maßgeblich durch die physikalische Netzwerkstruktur des Reaktionsmediums beeinflusst. Es ist daher zu überlegen, inwieweit nicht auch die Morphogenese komplexer Biominerale durch die rein physikalische Struktur extrazellulärer Matrices mitbestimmt wird.

Allerdings geht die initiale Keimbildung der Aragonit-Plättchen des Perlmutterts, im Gegensatz zu der Mineralisation in poly-AAM, auf einen Mechanismus der molekularen Oberflächenerkennung zurück [Man96]. Das weitere Wachstum der einzelnen Aragonit-Kristalle kann jedoch, vergleichbar den Verhältnissen in poly-AAM, durch die physikalische Struktur der gelartigen extrazellulären Matrix beeinflusst werden: Analog den oktaedrischen Aggregaten

kristallisieren die einzelnen Plättchen in separaten Kompartimenten. Die kohärent streuenden (XRD) Untereinheiten der Oktaeder scheinen ebenso wie die Aragonit-Plättchen keine inkorporierten Matrix-Bestandteile zu enthalten. Möglicherweise ist auch der „Mineralbrücken“-Mechanismus der Perlmutter-Genese auf die heterogene Nukleation vorgeformter Cluster zurückzuführen. Demnach wäre dieser Mechanismus als ein Poly-Nukleationsprozeß anzusehen, die Mineralbrücken würden die orientierte Verwachsung der Bausteine aktivieren. Vergleichbar der Oktaedergenese wird die extrazelluläre Matrix während des Plättchen-Wachstums zusammengeschoben, so daß sie sich, ausgehend von dem gequollenen Gelzustand, in der  $\beta$ -Faltblattstruktur organisieren kann.

Die Analogiebeziehungen der Kristallisation in dem synthetischen Netzwerk und der Biomineralisation von Perlmutter weisen auf einen Effekt der Netzwerkstruktur der extrazellulären Matrix hin. Die polymorphe Selektivität (Aragonit) ist hingegen ein deutlicher Hinweis auf eine molekular-chemische Wechselwirkung der organischen Phase und der Kristallphase. Demnach können Biomineralisationsprozesse von kooperativen Effekten der Netzwerkstruktur auf der einen Seite und saurer Makromoleküle auf der anderen Seite geprägt sein.

### 7.2.3 Sulfonat-funktionalisierte Copolymere

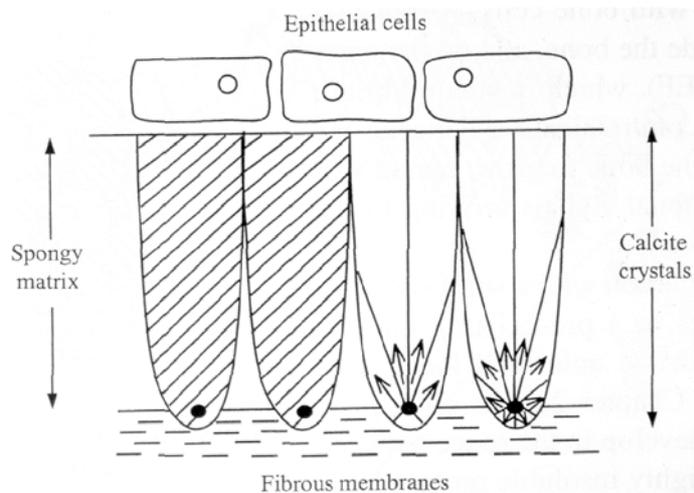
Stark polare funktionelle Gruppen in einem poly-AAm-Netzwerk führen nicht notwendigerweise zu grundsätzlicher Variation der Mineralisation in dem untersuchten Modellsystem. Dies wirft die Frage auf, inwieweit das schlichte Vorhandensein einer negativen Ladungsdichte, gemäß dem ionotropen Keimbildungsmodell [Gre84, Cal96], für die Biomineralisation wesentlich ist. Allerdings zeichnen sich zahlreiche Biomineralisationsprozesse durch ein hohes Maß an morphogenetischer Kontrolle aus [Low89]. Durch unterschiedlichen Gehalt an Sulfonatgruppen lassen sich in dem Copolymer die Formenausprägungen der Mineralisationsprodukte steuern. Es erscheint plausibel, daß auch in biologischen Systemen funktionelle Gruppen die lokalen Verhältnisse des Kristallwachstums einstellen. Die Keimbildung kann demgegenüber durch andere funktionelle Gruppen beeinflusst werden.

### 7.2.4 Carboxylat-funktionalisierte Copolymere

Vergleichbar den Verhältnissen in Carboxylat-funktionalisiertem poly-Acrylamid wird für einige Biomineralisationsprozesse die intermediäre Stabilisierung einer metastabilen Phase beschrieben [Low75]. Bei der Ausheilung von Defekten in Muschelschalen stellt der leicht lösliche Vaterit ein Reservoir für die Mineralisation der thermodynamisch stabilen Modifikation dar [Wil63].

Das sphärolithische Gefüge der makroskopischen Mineralisationsprodukte weist Ähnlichkeiten mit der Calcit-Schale von Vogeleiern auf. Die Keimbildung des biologischen Materials erfolgt in einer Membran aus Keratin-ähnlichen Proteinen. Wie in Abbildung 7-5 dargestellt, geht die Kristallisation von zahlreichen Keimbildungszentren aus. Im Verlauf des Kristallwachstums berühren sich die wachsenden Sphärolithe. Das weitere Dickenwachstum der Eierschale erfolgt entlang der kristallographischen c-Achse. Das sphärolithische Wachstum wird von der

schwammartigen Matrix nicht beeinflusst. Allerdings führt die Inkorporation des Kristallisationsmediums zu hervorragenden mechanischen Eigenschaften des biologischen Komposits [Sil86]. Auch in poly-AAM-AC geht die Kristallisation der makroskopischen Mineralisationsprodukte von einem zentralen Ort der Keimbildung aus. Das Hydrogelmedium hat keinen Einfluß auf das weitere sphärolithische Wachstum. Der chonchoidale Bruch der Calcit-Kugeln belegt die verbesserten mechanischen Eigenschaften gegenüber einem rein anorganischen Calcit-Spaltrhomboeder.



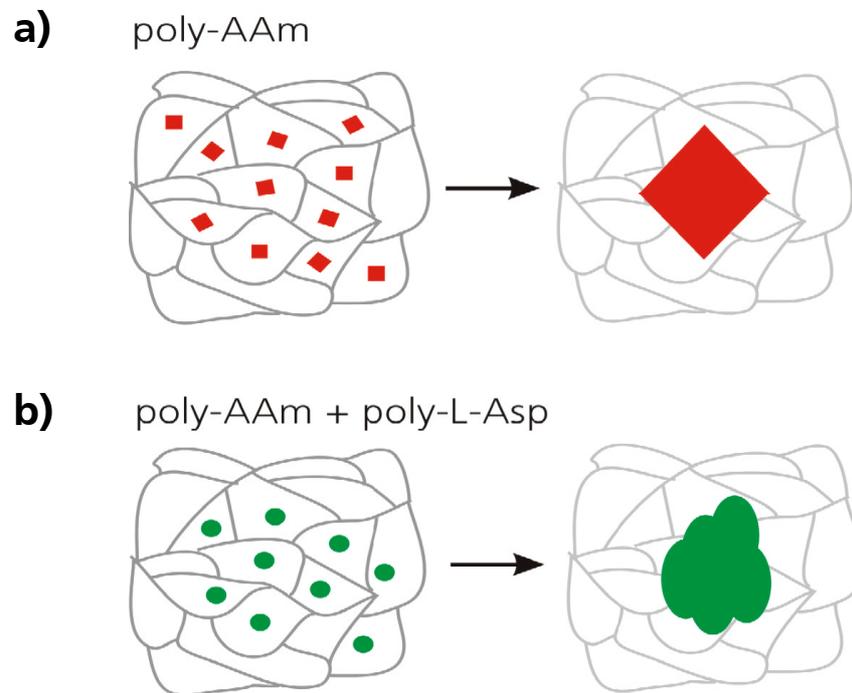
**Abbildung 7-5:** Mineralisation von Eierschalen: Die Pfeile markieren die c-Achse des Calcits (aus[Man01]).

### 7.2.5 Hydrogele mit Additiven

Eine wesentliche Herausforderung natürlicher Biomineralisationsprozesse ist es, ungewünschte Kristallisation in einem Organismus zu verhindern. Ohne diese inhibierende Wirkung organischer Additive würde der Mensch innerhalb kurzer Zeit zu einer „Salzsäule“ aus Ca-Phosphat erstarren [Low89]. Ebenso verhindern gelöste Makromoleküle in den Poren der extrazellulären Matrix die Umwandlung metastabiler Phasen in den thermodynamischen Gleichgewichtszustand. Durch ein komplexes Wechselspiel gelöster sowie immobilisierter Matrixmoleküle können einige Insekten sogar amorphes  $\text{CaCO}_3$  (ACC) stabilisieren [Glö01]. Vor diesem Hintergrund ist die Wirkungsweise des poly-L-Asp biologischen Prozessen vergleichbar.

Es ist jedoch vielfach nicht hinreichend verstanden, aus welchem Grund natürliche Organismen große (energetische) Anstrengungen aufbringen, um metastabile Phasen zu mineralisieren: Es hat sich gezeigt, daß die Netzwerkeffekte des Gelatinegels und des poly-AAM durch die Kristallisation des Vaterits außer Kraft gesetzt werden können. Da sowohl die hantelähnlichen Produkte als auch die Oktaeder des poly-AAM auf einen rhomboedrischen Keimkristall zurückgehen, wird durch die Bildung sphärischer Vaterit-Partikel der jeweilige Kristallisationsmechanismus der reinen Netzwerke umgangen (Abbildung 7-6). Vergleichbare Effekte sind auch für natürliche Biomineralisationsprozesse vorstellbar: Durch lokale polymorphe Selektivität kann die Morphogenese der Biominerale gesteuert werden. Es erscheint energetisch vorteilhafter, modifikationsselektive Additive auszuschütten, statt die gesamte physikalische

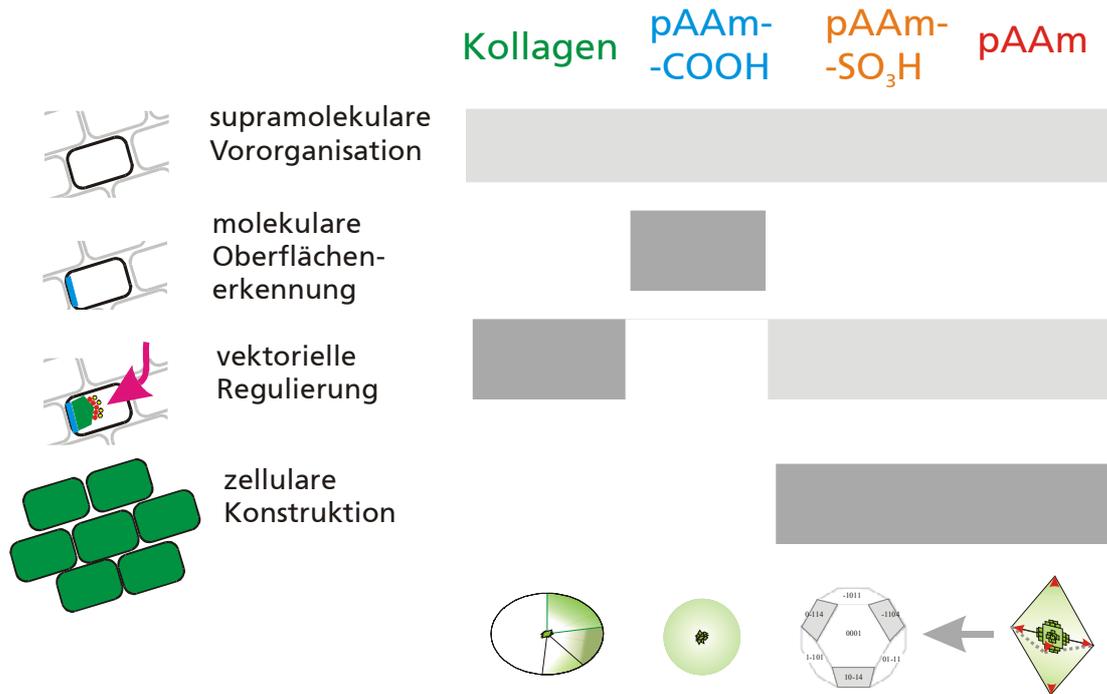
Netzwerkstruktur der organischen Matrix zu reorganisieren. Auf diese Weise kann der Kristallisationsmechanismus im Wechselspiel gelöster Makromoleküle und der physikalischen Matrixstruktur eingestellt werden.



**Abbildung 7-6:** Schematische Darstellung der Abhängigkeit des Kristallisationsmechanismus von der Art der aggregierenden bzw. agglomerierenden Untereinheiten: **a)** unfunktionalisiertes poly-AAm, **b)** poly-AAm mit poly-L-Asp

### 7.2.6 Stufen der Biomineralisation

Biomineralisationsprozesse basieren auf komplexen Wechselwirkungen zahlreicher Parameter. Da derartige Prozesse in ihrer Gesamtheit nicht nachzuvollziehen sind, postuliert S. Mann vier generelle Konzepte der Biomineralisation [Man96] (vgl. **2.4**). Um die Relevanz der untersuchten Modellsysteme für die Biomineralisation herauszustellen, sollen die Mineralisationsversuche diesen grundsätzlichen Konzepten zugeordnet werden (Abbildung 7-7).



**Abbildung 7-7:** Vergleich der Mineralisationsversuche in Hydrogelmatrices mit den vier Konzepten der Biomineralisation.

Bei der Mineralisation von Knochen [Mil84] und Muschelschalen [Wei84] unterscheidet man zwei Klassen der Makromoleküle: unlösliche Gerüstmoleküle und lösliche, saure Makromoleküle. Das Netzwerk (Rückgrat) der untersuchten Gelsysteme ist den Gerüstmakromolekülen vergleichbar. In diesem Sinne gewährleisten die untersuchten Gelnetzwerke eine *supramolekulare Vororganisation*. Die ionischen funktionellen Gruppen der Sulfonat- sowie der Carboxylat-funktionalisierten Copolymere entsprechen den sauren Makromolekülen. Da jedoch in einem poly-AAm-AMPS-Netzwerk keine spezifischen Wechselwirkungen der funktionellen Gruppen mit der Kristallphase nachzuweisen sind, ist das Konzept der *molekularen Oberflächen-erkennung* lediglich in den poly-AAm-AC-Hydrogelen erfüllt.

Durch orientierte Verwachsung der organischen Matrix mit dem abgeschiedenen Biomineral kann in der Natur eine *vektorielle Regulierung* der Materialabscheidung erfolgen. Ein vergleichbarer Mechanismus ist bei der Mineralisation der hantelähnlichen Produkte in Gelatinegel zu beobachten. Demgegenüber wird in einer Carboxylat-funktionalisierten Matrix das Kristallwachstum nicht von der Gelmatrix beeinflusst. In poly-AAm und dem Sulfonat-funktionalisiertem Copolymer wird die Bildung vorgeformter Wachstumseinheiten durch die physikalische Netzwerkstruktur bestimmt. In dieser Hinsicht ist das Konzept der vektoriellen Regulierung erfüllt. Dies ist allerdings dadurch eingeschränkt, daß die vorgeformten Cluster nicht gerichtet (vektoriell) wachsen.

Die Aggregation in poly-AAm und poly-AAm-AMPS entspricht deutlich dem Konzept der mesoskopischen Strukturierung (*zelluläre Konstruktion*). Individuelle Untereinheiten sind zu einer höher organisierten Überstruktur zusammengefügt. Auf einem vergleichbaren Prinzip beruhen die herausragenden mechanischen Eigenschaften zahlreicher Muschelschalen sowie des menschlichen Knochens [Ca196].

## 8. Zusammenfassung

In Analogie zu natürlichen Proteingerüsten wurden poly-Acrylamid-Hydrogele mit polaren funktionellen Gruppen modifiziert, die in der Biomineralisation eine wichtige Rolle spielen. Durch gezielte Variation der Synthesebedingungen ist es möglich, Art, Gehalt und räumliche Anordnung der ionischen Funktionalitäten in den Copolymernetzwerken einzustellen. Die Hydrogele wurden in einer Doppeldiffusionsanordnung zur Mineralisation von  $\text{CaCO}_3$  eingesetzt und die Ergebnisse mit Gelatinegel als natürlichem Reaktionsmedium verglichen.

Entgegen der ursprünglichen Erwartungen konnten in Gelatinegel keine Hinweise auf molekular-chemische Wechselwirkungen zwischen dem Proteinnetzwerk und den Mineralisationsprodukten nachgewiesen werden. Im Verlauf der Kristallisation wird die organische Matrix lediglich passiv inkorporiert. Allerdings bewirkt die heterogene Verteilung in den hantelähnlichen Kompositpartikeln die Auffächerung der Wachstumsfronten, so daß sich im Verlauf des Kristallwachstums eine Zwillingsstruktur der makroskopischen Produkte ausbildet. Der Netzwerkeffekt der organischen Matrix wird jedoch von dem lokalen chemischen Milieu in dem Gelkörper überlagert. Die Ähnlichkeit der Produkte mit natürlichen Biomineralen weist darauf hin, daß auch Biomineralisationsprozesse lediglich Folge eines unspezifischen chemischen Milieus sein können.

Deutliche Analogien zu natürlichen Biomineralisationsprodukten wurden bei der Materialabscheidung in unfunktionalisierten poly-Acrylamid-Hydrogelen beobachtet. Die oktaedrische Form der Mineralisationsprodukte ist untypisch für Calcit und kennzeichnet einen spezifischen Kristallisationsmechanismus. Obwohl die Aggregate aus zahlreichen rhomboedrischen Calcit-Bausteinen zusammengefügt sind, weisen die makroskopischen Produkte eine gestörte einkristalline Struktur auf. Das große Mosaik der Röntgenbeugungsmaxima ist auf die Fehlorientierung kohärent streuender Bereiche zurückzuführen. Basierend auf den Untersuchungsergebnissen wurde ein Aggregationsmodell postuliert: Die simultane orientierte Verwachsung rhomboedrischer Untereinheiten sowie das Flächenwachstum dieser Bausteine führt zu der oktaedrischen Morphologie der Aggregate. Die prinzipielle Analogie der Mineralisationsprodukte mit vielen Biomineralen richtet den Blick auf die Frage, inwieweit alleine die physikalische Struktur extrazellulärer Matrices eine wichtige Rolle bei der Biomineralisation spielt.

Die Ergebnisse der Mineralisationsversuche in Sulfonat-funktionalisierten Hydrogelen untermauern den dominanten Effekt der Netzwerkstruktur. Die stark polaren funktionellen Gruppen modifizieren lediglich die Morphologie der Aggregate, führen aber nicht zu einer grundlegenden Veränderung der Nukleation und des Wachstumsmechanismus. Demgegenüber zeigt sich in Carboxylat-funktionalisiertem poly-Acrylamid eine deutlich erhöhte Keimdichte und eine intermediäre Stabilisierung von Vaterit. Dieser spezifische Einfluß der Carboxylatgruppen auf die Keimbildung relativiert das oft für Biomineralisationsvorgänge postulierte ionotrope Nukleationsmodell und unterstreicht die Notwendigkeit einer stereochemischen Verwandtschaft zwischen den organischen Funktionalitäten und der entstehenden Kristallphase.

Besonders deutlich wird die Bedeutung der Carboxylatgruppen bei der Mineralisation in Gelmatrices, die mit poly-L-Aspartat versetzt wurden. Die Wirkungsweise des Gelatinegels sowie der Kompartimenteffekt des poly-Acrylamid wird durch die Wechselwirkung des Additivs mit der anorganischen Phase überkompensiert: Im Verlauf der Doppeldiffusion entstehen in den untersuchten Hydrogelen Vaterit-Agglomerate, die permanent stabilisiert sind. Da die Kristallisationsmechanismen der reinen Gelmatrices rhomboedrische Calcit-Keimkristalle voraussetzen, werden die Netzwerkeffekte durch die Bildung sphärischer Vaterit-Partikel außer Kraft gesetzt. Möglicherweise beruht auch die Morphogenese natürlicher Biomineralisationsprodukte auf einem Wechselspiel des physikalischen Netzwerkeffekts einer extrazellulären Matrix und der Wirkungsweise modifikationsselektiver Makromoleküle.

In den unterschiedlichen Hydrogelmatrices sind, trotz einheitlicher Versuchsbedingungen, drei grundsätzlich verschiedene Kristallisationsmechanismen des Calcits wirksam: In Gelatinegel kommt es zu lagenweisem Wachstum, die oktaedrischen Produkte aus poly-Acrylamid gehen auf die Aggregation vorgeformter Untereinheiten zurück und in Carboxylat-funktionalisierten Netzwerken entstehen sphärolithische Kristalle. Diese Ergebnisse belegen auf anschauliche Weise eine Wechselwirkung der organischen Matrix mit der anorganischen Phase. In natürlichen Systemen wird dieser Effekt durch komplexe genetische und zelluläre Prozesse gesteuert, die sich *in-vitro* nicht simulieren lassen. Allerdings weisen die Analogien der Mineralisationsversuche mit natürlichen Biomineralisationsprozessen auf vergleichbare Prinzipien hin. Demzufolge können die Mechanismen der Biomineralisation verhältnismäßig trivial sein, allein die biologische Reproduzierbarkeit der Materialabscheidung setzt ein hohes Maß an genetischer Steuerung voraus.

Von einer weiterführenden Untersuchung der Mechanismen, die der Biomineralisation zugrunde liegen, sind wesentliche Impulse für eine biomimetische Materialsynthese zu erwarten. Wie die spezifische Wechselwirkung der Carboxylatgruppen mit der Kristallphase nahelegt, sollten die molekular-chemischen Effekte polarer funktioneller Gruppen im Mittelpunkt des Interesses stehen. Für ein besseres Gesamtverständnis muß daher eine Brücke zwischen der „mesoskopischen“ Wirkung gelartiger Medien und entsprechenden Vorgängen auf atomarer Skala geschlagen werden. Die atomaren Mechanismen bei der Kristallisation von  $\text{CaCO}_3$  in Gegenwart verschiedener Additive werden in einem Partnerprojekt an der Universität Münster untersucht [Set03]. Die Zusammenführung dieser beiden Sichtweisen läßt ein tiefgreifendes Verständnis der allgemeinen Prinzipien der Biomineralisation erwarten.

## 9. summary

By analogy to natural protein networks poly-acrylamide hydrogels were modified with polar functional groups, that are relevant for biomineralization processes. The copolymer synthesis is modified in order to adjust the type, content and spatial arrangement of ionic functional groups within the network.  $\text{CaCO}_3$  particles are grown in these matrices using a counter-diffusion arrangement. The results are compared to the mineralization in a natural reference medium of gelatin hydrogel.

Although the microstructural analysis revealed a heterogeneous intergrowth of gelatin and inorganic phases within the particles, the composite growth is rather a consequence of the local chemical environment. The incorporated organic matrix, however, interacts with the crystal faces of a rhombohedral nucleus. For steric reasons, the lamellar assembly of the organic and inorganic material leads to twinning of the macroscopic products in the course of crystal growth. The analogy of the dumbbell-shaped composite particles to some biominerals suggests that biological crystallization may take place under comparable conditions.

The crystal aggregates isolated from unfunctionalized poly-acrylamide hydrogel show striking similarities to natural biomineralization products. The octahedral morphology of the aggregates is unexpected for calcite crystals. Although the aggregates consist of independent rhombohedral calcite building blocks, the structure of the macroscopic products corresponds to distorted single crystals. The large mosaic spread of the X-ray diffraction spots is a consequence of the misalignment of coherent scattering domains within the macrocrystal structure. Based on the results a specific aggregate growth model is proposed: The observed octahedral morphology is attributed to the simultaneous oriented attachment of rhombohedral subunits and the layer-by-layer growth of these building blocks. Because of the general analogy of the hydrogel-grown aggregates with many biominerals the question arises, whether the physical structure of extracellular matrices is important for biomineralization as well.

Experiments in copolymers containing sulfonate groups confirm the dominant effect of the network structure for the mineralization within hydrogel matrices. The morphology of the aggregates is just slightly altered by the highly polar functional groups. The aggregation-based growth of the products corresponds to the mechanism observed for the mineralization in unfunctionalized poly-acrylamide. On the other hand, the crystallization in matrices containing carboxylate groups is fundamentally different. Within these hydrogels the density of nucleation is increased and vaterite is intermediately stabilized. This specific influence of the functional groups on the crystallization of  $\text{CaCO}_3$  extends the commonly proposed ionotropic model of biomineral nucleation. Within the biomimetic model system the mineralization is highly affected by the stereochemical matching of organic functional groups and the inorganic crystal phase.

The significance of the carboxylate groups for the mineralization of  $\text{CaCO}_3$  is emphasized by the experimental results using hydrogels containing poly-L-aspartate. The addition of poly-L-aspartate to the pore solution of either gelatin or poly-acrylamide hydrogel appears to overcompensate the physical properties of the organic matrix, leading to permanently stabilized vaterite agglomerates. Since the crystal growth mechanism in pure hydrogel matrices is based

---

on rhombohedral calcite nuclei, the morphogenetic effect of the physical hydrogel structure is suspended due to formation of spherical vaterite particles. Possibly, the interaction between the network structure of extracellular matrices and the polymorph selective effect of organic macromolecules is relevant for the morphogenesis in biological systems as well.

Three fundamentally different mechanisms of crystal growth are observed for the mineralization in the matrices used: Corresponding to classical models of crystallization the products isolated from gelatin hydrogel grow by a layer-by-layer mechanism, assembly of preformed building blocks within unfunctionalized poly-acrylamide leads to octahedral aggregates and within networks containing carboxylate groups spherulitic crystal growth is observed. These results obviously prove extensive interactions between the organic matrix and the inorganic phase. In natural systems these effects are adjusted by complex genetic and cellular processes, that are not accessible for *in-vitro* methods. However, the analogies of the experiments with biomineralization processes indicate comparable principles. Whereas the biological reproducibility of biomineralization implies a high degree of genetic control, the underlying mechanisms could be rather trivial.

It is expected that further investigations of the mechanisms of biomineralization will provide fundamental stimuli for the field of biomimetic materials synthesis. As indicated by the specific interactions of carboxylate groups and the evolving crystal phase, further research should focus on the molecular-chemical influence of polar functional groups. To unravel the mechanisms of biomineralization the described mesoscopic effects of the hydrogel matrices and the respective processes at an atomic scale should be combined. The molecular-chemical mechanisms in the course of  $\text{CaCO}_3$  crystallization in aqueous solutions containing various organic additives are studied within an associate project at the University of Münster [Set03]. The combination of both approaches should provide an improved understanding of the general principles of biomineralization.

---

**10. Literatur**

- [Add85] L.Addadi, S.Weiner "Interaction between acidic proteins and crystals: stereochemical requirements in biomineralization" *Proc.Nat.Acad.Sci.USA* **82** (1985) 4110.
- [Add92] L.Addadi, S.Weiner "Control and Design Principles in Biological Mineralization" *Angew.Chem.Int.Ed.* **31** (1992) 153.
- [Aiz99] J.Aizenberg, A.Black, G.Whitesides "Control of crystal nucleation by patterned self-assembled monolayers" *Nature* **398** (1999) 495.
- [Ali00] A.Alivisatos "Naturally Aligned Nanocrystals" *Science* **289** (2000) 736.
- [All94] R.Allmann *Röntgenpulverdiffraktometrie* (Clausthaler Tektonische Hefte 29, 1994).
- [Bae00] E.Baeuerlein (Hrsg.) *Biomineralization: From Biology to Biotechnology and Medical Application* (Wiley-VCH, Weinheim, 2000).
- [Ban00] J.Banfield, S.Welch, H.Zhang, T.Thomsen Ebert, R.Penn "Aggregation-based crystal growth and microstructure development in natural iron oxyhydroxide biomineralization products" *Science* **289** (2000) 751.
- [Bel96] A.Belcher, X.Wu, J.Cristensen, P.Hansma, G.Stucky, D.Morse "Control of crystal phase switching and orientation by soluble mollusc-shell proteins" *Nature* **381** (1996) 56.
- [Ber88] A.Berman, L.Addadi, S.Weiner "Interactions of sea-urchin skeleton macromolecules with growing calcite crystals: a study of intracrystalline proteins" *Nature* **331** (1988) 546.
- [Bos89] A.Boskey "Hydroxyapatite formation in a dynamic collagen gel system: Effects of Type I collagen, lipids, and proteoglycans" *J.Phys.Chem.* **93** (1989) 1628.
- [Bos96] A.Boskey "Matrix proteins and mineralization: an overview" *Connective Tissue Res.* **35** (1996) 357.
- [Bra99] J.Bradt, M.Mertig, A.Teresiak, W.Pompe "Biomimetic mineralization of collagen by combined fibril assembly and calcium phosphate formation" *Chem.Mater.* **11** (1999) 2694.
- [Bri90] C.Brinker, G.Scherer *Sol-Gel Science - The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing* (Academic Press, Boston, 1990).
- [Buc91] C.Buczynski, H.Chafetz "Habit of bacterially induced precipitates of calcium carbonate and the influence of medium viscosity on mineralogy" *J.Sedim.Petr.* **61** (1991) 226.
- [Bun94] B.Bunker, P.Rieke, B.Tarasevich, A.Campbell, G.Fryxell, G.Graff, L.Song, J.Liu, J.Virden, G.McVay "Ceramic thin-film formation on functionalized interfaces through biomimetic processing" *Science* **264** (1994) 48.
- [Bur51] W.Burton, N.Cabrera, F.Frank "The growth of crystals and the equilibrium structure of their surfaces" *Phil.Trans.R.Soc.Lond.A.* **243** (1951) 299.
- [Bus99] S.Busch, H.Dolhaine, A.DuChesne, S.Heinz, O.Hochrein, F.Laeri, O.Podebrad, U.Vietze, T.Weiland, R.Kniep "Biomimetic morphogenesis of fluorapatite-gelatin composites: fractal growth, the question of intrinsic electric fields, core-shell assemblies, hollow spheres and reorganization of denatured collagen" *Eur.J.Inorg.Chem.* **10** (1999) 1643.

- [Bus01] S.Busch, U.Schwarz, R.Kniep "Morphogenesis and structure of human teeth in relation to biomimetically grown fluorapatite-gelatin composites" *Chem.Mater.* **13** (2001) 3260.
- [Bus03] S.Busch, U.Schwarz, R.Kniep "Chemical and structural investigations of biomimetically grown fluorapatite-gelatin composite aggregates" *Adv.Funct.Mater.* **13** (2003) 189.
- [Cab71] W.Cabaness, T.Lin, C.Párakányi "Effect of pH on the reactivity ratios in the copolymerization of acylic acid and acrylamide" *J.Polym.Sci. A* **9** (1971) 2155.
- [Cal95] P.Calvert "Biomimetic ceramics and hard composites" in: *Biomimetics: Design and Processing of Materials*, M.Sarikaya, I.Aksay (Hrsg.) (AIP Press, Woodbury, NY, 1995) 145.
- [Cal96] P.Calvert, P.Rieke "Biomimetic mineralization in and on polymers" *Chem.Mater.* **8** (1996) 1715.
- [Che84] A.Chernov *Modern Crystallography: Crystal Growth* (Springer, New York, 1984).
- [Cöl01] H.Cölfen, L.Qi "A systematic examination of the morphogenesis of calcium carbonate in the presence of a double-hydrophilic block copolymer" *Chem.Eur.J.* **7** (2001) 106.
- [Cöl03] H.Cölfen, S.Mann "Emergence of higher-order organization by mesoscale self-assembly and transformation of hybrid nanostructures" *Angew.Chem.Int.Ed.* in Druck.
- [Dee92] W.Deer, R.Howie, J.Zussman *The Rock-Forming Minerals* (Longman, Harlow, 1992).
- [DeG96] M.Deguire, H.Shin, R.Collins, M.Agarwahl, C.Sukenik, A.Heuer "Deposition of oxide thin films on silicon using organic self-assembled monolayers" *Proc.SPIE- Int.Soc.Opt.Eng.* **2686** (1996) 88.
- [Dom86] S.Dominguez Bella, J.Garcia-Ruiz "Textures in induced morphology crystal aggregates of CaCO<sub>3</sub>: sheaf of the wheat morphologies" *J.Cryst.Growth* **79** (1986) 236.
- [Dur00] S.Durmaz, O.Okay "Acrylamide/2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid sodium salt-based hydrogels: synthesis and characterization" *Polymer* **41** (2000) 3693.
- [Fal95] J.Falbe, M.Regitz (Hrsg.) *Römpf Chemie Lexikon* (Thieme, Stuttgart, 1995).
- [Fal97] G.Falini, S.Fermani, M.Gazzano, A.Ripamonti "Biomimetic crystallization of calcium carbonate polymorphs by means of collagenous matrices" *Chem.Eur.J.* **3** (1997) 1807.
- [Fal98] G.Falini, S.Fermani, M.Gazzano, A.Ripamonti "Oriented Crystallization of Vaterite in Collagenous Matrices" *Chem.Eur.J.* **4** (1998) 1048.
- [Fal00] G.Falini, S.Fermani, M.Gazzano, A.Ripamonti "Polymorphism and architectural crystal assembly of calcium carbonate in biologically inspired polymeric matrices" *J.Chem.Soc., Dalton Trans.* (2000) 3983.
- [Fal00a] G.Falini, M.Gazzano, A.Ripamonti "Control of the architectural assembly of octacalcium phosphate crystals in denaturated collagenous matrices" *J.Mater.Chem.* **10** (2000) 535.
- [Fer96] L.Fernandez-Diaz, A.Putnis, M.Prieto, C.Putnis "The role of magnesium in the crystallization of calcite and aragonite in a porous medium" *J.Sedim.Res.* **66** (1996) 482.
- [Fin92] D.Fink, A.Caplan, A.Heuer "Eggshell mineralization: a case study of a bioprocessing strategy" *MRS Bull.* **10** (1992) 27.

- [Flo53] P.Flory *Principles of Polymer Chemistry* (Correll University Press, London, 1953).
- [Gab98] C.Gabrielli, G.Maurin, G.Poindessous, R.Rosset "Nucleation and growth of calcium carbonate by an electrochemical scaling process" *J.Cryst.Growth* **200** (1999) 236.
- [Gar91] J.García-Ruiz "The uses of crystal growth in gels and other diffusing-reacting systems" *Key Eng.Mater.* **58** (1991) 87.
- [Gli00] M.Glicksman *Diffusion in Solids* (J.Wiley & Sons, New York, 2000).
- [Glö01] J.Glötzner, A.Ziegler "Ultrastructure and morphometric analysis of the sternal epithelium of the terrestrial isopods *ligia oceanica*, *ligidium hypnorum* and *porcellio scaber*" *Arthropod. Struct. Develop.* **29** (2001) 241.
- [Gow98] L.Gower, D.Tirrell "Calcium carbonate films and helices grown in solutions of poly(aspartate)" *J.Cryst.Growth* **191** (1998) 153.
- [Gra02] O.Grassmann, G.Müller, P.Löbmann "Organic-inorganic hybrid structure of calcite crystalline assemblies grown in a gelatin hydrogel matrix: relevance to biomineralization" *Chem.Mater.* **14** (2002) 4530.
- [Gra03a] O.Grassmann, R.Neder, A.Putnis, P.Löbmann "Biomimetic control of crystal self-assembly by growth in an organic hydrogel network" *Am.Mineral.* **88** (2003) 647.
- [Gra03b] O. Grassmann, P.Löbmann "Morphogenetic control of calcite crystal growth in sulfonic acid-based hydrogels" *Chem.Eur.J.* **9** (2003) 1310.
- [Gra03c] O.Grassmann, P.Löbmann "Matrix mediated nucleation and crystal growth in carboxylate groups containing copolymers" *Biomaterials* submitted.
- [Gre84] E.Greenfield, D.Wilson, M.Crenshaw "Ionotropic nucleation of calcium carbonate by molluscan matrix" *Am.Zool.* **24** (1984) 925.
- [Hah95] T.Hahn (Hrsg.) *International Tables for Crystallography* (Kluwer Academic Publishers, London, 1995).
- [Hal69] E.Halberstadt, H.Henisch, J.Nickl, E.White "Gel structure and crystal nucleation" *J.Colloid Interface Sci.* **29** (1969) 469.
- [Has00] B.Hasse, H.Ehrenberg, J.Marxen, W.Becker, M.Epple "Calcium carbonate modifications in the mineralized shell of the freshwater snail *biomphalaria glabrata*" *Chem.Eur.J.* **6** (2000) 3679.
- [Haü84] R.Haüy „Essai d’une théorie sur la structure des cristaux“ Paris (1784).
- [Hen86] H.Henisch, J.García-Ruiz "Crystal growth in gels and Liesegang ring formation" *J.Cryst.Growth* **75** (1986) 195.
- [Hen88] H.Henisch *Crystals in Gels and Liesegang Rings* (Cambridge University Press, Cambridge, 1988).
- [Hey94] B.Heywood, S.Mann "Template-directed nucleation and growth of inorganic materials" *Adv.Mater.* **6** (1994) 9.

- [Hey00] B.Heywood, S.Hill, K.Pitt, P.Tibble, S.Williams "Biogenic inspiration for the controlled nucleation and growth of inorganic materials" *Mat.Res.Soc.Symp.* **620** (2000) 451.
- [Hol95] A.Hollemann, E.Wiberg *Lehrbuch der anorganischen Chemie* (Walter de Gruyter, Berlin, 1995).
- [Hua03] F.Huang, H.Zhang, J.Banfield "Two-stage crystal-growth kinetics observed during hydrothermal coarsening of nanocrystalline ZnS" *Nano Lett.* **3** (2003) 373.
- [Jcr00] JCrystalSoft, Version 1.02 (2000).
- [Kej92] Y.Kejun, Z.Guowei "Synthesis and rheological properties in aqueous solution of poly(acrylamide-co-sodium allylsulfonate)" *J.Appl.Polym.Sci.* **44** (1992) 1.
- [Kit01] M.Kitamura "Crystallization and transformation mechanism of calcium carbonate polymorphs and the effect of magnesium ion" *J.Colloid Interface Sci.* **236** (2001) 318.
- [Kle90] W.Kleber, H.Bautsch, J.Bohm *Einführung in die Kristallographie* (Verlag Technik, Berlin, 1990).
- [Klu74] H.Klug, L.Alexander *X-ray Diffraction Procedures* (J.Wiley & Sons, New York, 1974).
- [Kni96] R.Kniep, S.Busch „Biomimetisches Wachstum und Selbstorganisation von Fluorapatit-Aggregaten durch Diffusion in denaturierten Kollagen-Matrices" *Angew.Chem.* **108** (1996) 2788.
- [Kos27] W.Kossel „Zur Theorie des Kristallwachstums" *Nachr.Ges.Wiss. Göttingen, Math.-phys. Klasse* (1927) 135.
- [Kuh94] L.Kuhn Spearing, S.Sarig, D.Fink, A.Heuer "The effect of organic macromolecules on the vaterite to calcite transformation" *Mat.Res.Soc.Symp.Proc.* **330** (1994) 127.
- [Lev01] Y.Levi-Kalishman, G.Falini, L.Addadi, S.Weiner "Structure of the nacreous organic matrix of a bivalve mollusk shell examined in the hydrated state using cryo-TEM" *J.Struct.Biol.* **135** (2001) 8.
- [Lit97] A.Litvin, S.Valiyaveetil, D.Kaplan, S.Mann "Template-directed synthesis of aragonite under supramolecular-bonded Langmuir monolayers" *Adv.Mater.* **9** (1997) 124.
- [Lim84] D.Lim "Otoconia in health and disease" *Ann.Otol.Rhinol.Laryngol.* (1983) 17.
- [Lin00] U.Lins, M.Farina, M.Kurc, G.Riordan, R.Thalmann, I.Thalmann, B.Kachar "The otoconia of the guinea pig utricle: internal structure, surface exposure, and interactions with the filament matrix" *J.Struct.Biol.* **131** (2000) 67.
- [Low75] H.Lowenstam, D.Abbott "Vaterite: a mineralization product of the hard tissues of a marine organism (ascidiacea)" *Science* **188** (1975) 363.
- [Low89] H.Lowenstam, S.Weiner *On Biomineralization* (Oxford University Press, Oxford, 1989).
- [Mal02] M.Mallack *Mineralisation anorganischer Phasen in Polyelektrolytlösungen* (Diplomarbeit, Universität Würzburg, 2002).
- [Man83] S.Mann, S.Parker, M.Ross, A.Skarnulis, R.Williams "The ultrastructure of the calcium carbonate balance organs of the inner ear: an ultra-high resolution electron microscopy study" *Proc.R.Soc.Lond.* **218** (1983) 415.

- [Man93] S.Mann, D.Archibald, J.Didymus, T.Douglas, B.Heywood, F.Meldrum, N.Reeves "Crystallization at inorganic-organic interfaces: Biominerals and biomimetic synthesis" *Science* **261** (1993) 1286.
- [Man96] S.Mann "Biomineralization and biomimetic materials chemistry" in: *Biomimetic Materials Chemistry* S.Mann (Hrsg.) (VCH, Weinheim, 1996) 1.
- [Man01] S.Mann *Biomineralization. Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry* (Oxford University Press, 2001).
- [Mar85] J.March *Advanced organic chemistry* (John Wiley & Sons, New York, 1985).
- [Mat83] S.Matthes *Mineralogie* (Springer, Berlin, 1983).
- [McC74] J.McCowley, R.Roy "Controlled nucleation and crystal growth of various CaCO<sub>3</sub> phases by the silica gel technique" *Am.Mineral.* **59** (1974) 947.
- [Mey65] H.Meyer „Bildung und Morphologie des Vaterits" *Zeitsch.Kristall.* **121** (1965) 220.
- [Mil84] A.Miller "Collagen: the organic matrix of bone" *Phil.Trans.R.Soc.Lond.B* **304** (1984) 455.
- [Not90] H.Nottelmann *Dynamisch-mechanische Eigenschaften und Quellungsverhalten ionischer Hydrogele in wäßrigen Medien* (Dissertation, Universität Hamburg, 1990).
- [Pai00] M.Paine, D.Zhu, W.Luo, P.Bringas, M.Goldberg, S.White, Y.Lei, M.Sarikaya, H.Fong, M.Snead "Enamel biomineralization defects result from alterations to amelogenin self-assembly" *J.Struct.Biol.* **132** (2000) 191.
- [Pic93] H.Pichler, C.Schmitt-Riegraf *Gesteinsbildende Minerale im Dünnschliff* (Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1993).
- [Pri89] M.Prieto, L.Fernandez-Diaz, L.Lopez, S.Lopez "Supersaturation evolution and first precipitate location in crystal growth in gels: application to barium and strontium carbonates" *J.Cryst.Growth* **98** (1989) 447.
- [Pri90] M.Prieto, A.Putnis, L.Fernandez-Diaz "Factors controlling the kinetics of crystallization: supersaturation evolution in a porous medium. Application to barite crystallization" *J.Cryst.Growth* **127** (1990) 485.
- [Pro97] T.Proffen, R.Neder "Discus: a program for diffuse scattering and defect structure-simulation" *J.Appl.Crystallogr.* **30** (1997) 171.
- [Put95] A.Putnis, M.Prieto, L.Fernandez-Diaz "Fluid supersaturation and crystallization in porous media" *Geol.Mag.* **132** (1995) 1.
- [Ram67] P.Ramdohr, H.Strunz *Klockmanns Lehrbuch der Mineralogie* (Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1967).
- [Ree83] R.Reeder (Hrsg.) *Carbonates: mineralogy and chemistry Reviews in Mineralogy Volume 11* (Mineralogical Society of America, Washington, 1983).
- [Rhe00] S.Rhee, J.Lee "Nucleation of hydroxyapatite crystal through chemical interaction with collagen" *J.Am.Ceram.Soc.* **83** (2000) 2890.

- [Rhe01] S.Rhee, J.Tanaka "Synthesis of a hydroxyapatite/collagen/chondroitin sulfate nanocomposite by a novel precipitation method" *J.Am.Ceram.Soc.* **84** (2001) 459.
- [Rös91] H.Rösler *Lehrbuch der Mineralogie* (Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1991).
- [Rüc78] R.Rüchel, R.Steere, E.Erbe "TEM observations of freeze-dried polyacrylamide gels" *J.Cromatogr.* **166** (1978) 563.
- [Sar94] S.Sarig "Fundamentals of aqueous solution growth" in: *Handbook of Crystal Growth* D.Hurle (Hrsg.) (Elsevier, North Holland, 1994) 1119.
- [Sar95] M.Sarikaya, I.Aksay *Biomimetics: Design and Processing of Materials* (AIP Press, Woodbury, NY, 1995).
- [Sch71] A.Schwartz, D.Eckart, J.O'Connell, K.Francis "Growth of vaterite and calcite crystals in gels" *MRS Bull.* **6** (1971) 1341.
- [Sch97] T.Schäffer, C.Ionescu-Zanetti, R.Proksch, M.Fritz, D.Walters, N.Almqvist, C.Zaremba, A.Belcher, B.Smith, G.Stucky, D.Morse, P.Hansma "Does abalone nacre form by heteroepitaxial nucleation or by growth through mineral bridges?" *Chem.Mater.* **9** (1997) 1731.
- [Sch98] K.Schwarz, M.Eppele "Biomimetic crystallization of apatite in a porous polymer matrix" *Chem.Eur.J.* **4** (1998) 1898.
- [Sea61] G.Sears "The origin of spherulites" *J.Phys.Chem.* **65** (1961) 1738.
- [Set03] I.Sethmann (Dissertation, Universität Münster, noch nicht eingereicht).
- [Sha02] Shape Software Version 6.0 Demo (2002).
- [She84] J.Sherman *Adsorption and Ion Exchange: progress and future prospects* (Am.Inst.Chem.Eng., New York, 1984).
- [Sik96] C.Sikes, A.Wierzbicki "Polyamino acids as antiscalants, dispersants, antifreezes, and absorbent gelling materials" in: *Biomimetic materials chemistry* S.Mann (Hrsg.) (VCH, Weinheim, 1996) 249.
- [Sil86] H.Silyn-Roberts, R.Sharp "Crystal growth and the role of the organic network in eggshell biomineralization" *Proc.R.Soc.Lond.B* **227** (1986) 303.
- [Sim95] S.Sims, J.Didymus, S.Mann "Habit modification in synthetic crystals of aragonite and vaterite" *J.Chem.Soc.Chem.Comm.* (1995) 1031.
- [Smi00] B.Smith, G.Paloczi, P.Hansma, R.Levine "Discerning nature's mechanism for making complex biocomposite crystals" *J.Cryst.Growth* **211** (2000) 116.
- [Sol02] D.Solpan, S.Duran, O.Güven "Synthesis and properties of radiation-induced acrylamide-acrylic acid hydrogels" *J.Appl.Polym.Sci.* **86** (2002) 3570.
- [Ste97] I.Stewart „Die Skulpturen von Alan St. George" *Spektrum der Wissenschaft* **10** (1997) 12.
- [Str28] I.Stranski "The theory of crystal growth" *Zeitschr.phys.Chem.* **136** (1928) 259.
- [Str96] L.Stryer *Biochemie* (Spektrum Akademischer Verlag 1996).

- 
- [Tsi93] S.Tsipursky, P.Buseck "Structure of magnesian calcite from sea urchins" *Am.Mineral.* **78** (1993) 775.
- [Vuc99] M.Vucak, J.Peric, M.Pons, S.Chanel "Morphological development in calcium carbonate precipitation by the ethanolamine process" *Powder Technol.* **101** (1999) 1.
- [Wat65] N.Watabe "Studies on shell formation: crystal-matrix relationships in the inner layers of mollusc shells" *J.Ultrastruct.Res.* **12** (1965) 351.
- [Wei84] S.Weiner, W.Traub "Macromolecules in mollusc shells and their functions in biomineralization" *Phil.Trans.R.Soc.Lond.* **304** (1984) 425.
- [Wei86] S.Weiner, W.Traub "Organization of hydroxyapatite crystals within collagen fibrils" *FEBS Lett.* **206** (1986) 262.
- [Wei97] S.Weiner, L.Addadi "Design and strategies in mineralized biological materials" *J.Mater.Chem.* **7** (1997) 689.
- [Wei99] S.Weiner, W.Traub, H.Wagner "Lamellar bone: structure-function relations" *J.Struct.Biol.* **126** (1999) 241.
- [Wei00] S.Weiner, L.Addadi, H.Wagner "Materials design in biology" *Mater. Sci. Eng. C* **11** (2001) 1.
- [Whi60] M.White "The Permeability of an acrylamide polymer gel" *J.Phys.Chem.* **64** (1960) 1563.
- [Wil02] F.Wilt "Biomineralization of the spicules of sea urchin embryos" *Zool.Sci.* **19** (2002) 253.
- [Wil63] K.Wilbur, N.Watabe "Experimental Studies on Calcification in Molluscs and the Alga *Coccolithus Huxleyi*" *Am.N.Y.Acad.Sci* (1963) 82.
- [Zha02] H.Zhang, J.Banfield "Kinetics of crystallization and crystal growth of nanocrystalline anatase in nanometer-sized amorphous titania" *Chem.Mater.* **14** (2002) 4145.

---

O.Grassmann, G.Müller, P.Löbmann "Organic-inorganic hybrid structure of calcite crystalline assemblies grown in a gelatin hydrogel matrix: relevance to biomineralization" *Chem.Mater.* **14** (2002) 4530.

O.Grassmann, P.Löbmann "Kristallisation in funktionalisierten Hydrogelmatrices: Ein Modell der Biomineralisation" *Beihefte Eur.J.Mineral.* **14** (2002) 59.

O.Grassmann, P.Löbmann "Biomimetische Materialsynthese in funktionalisierten Hydrogelmatrices" *Schriftenreihe der DGG* **21** (2002) 139.

O.Grassmann, R.Neder, A.Putnis, P.Löbmann "Biomimetic control of crystal self-assembly by growth in an organic hydrogel network" *Am.Mineral.* **88** (2003) 647.

O. Grassmann, P.Löbmann "Morphogenetic control of calcite crystal growth in sulfonic acid-based hydrogels" *Chem.Eur.J.* **9** (2003) 1310.

O.Grassmann, P.Löbmann "Matrix mediated nucleation and crystal growth in carboxylate groups containing copolymers" *Biomaterials* submitted.

An erster Stelle möchte ich mich sehr herzlich bei meinen Eltern für die vielfältige Unterstützung und das große Interesse an meiner Arbeit bedanken. Vielen Dank auch an Nancy für Verständnis und Ansporn während der Promotion.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Gerd Müller für die Möglichkeit, diese Arbeit am Lehrstuhl für Silicatchemie durchzuführen, sowie für das große Interesse, das er meinem Thema entgegengebracht hat. Peer Löbmann bin ich für wesentliche konzeptionelle, wissenschaftliche und grundsätzliche Diskussionen sehr dankbar. Durch sein großes Engagement hat er wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Besonders dankbar bin ich Herrn Prof. Reinhard Neder für die Unterstützung bei Durchführung und Auswertung der Einkristallröntgendiffraktometrie. Herrn Prof. Andrew Putnis möchte ich für wertvolle Anregungen und Motivation herzlich danken, Ingo für die gute Zusammenarbeit in unserem gemeinsamen Projekt.

Außerdem vielen Dank an Carsten und Holger, die die Entwicklung der Arbeit aus nächster Nähe und mit großem wissenschaftlichen Interesse verfolgten. An dieser Stelle möchte ich mich auch bei Frau Midtbö, Irina, Matthias M., Christian K., Robert und Christian R. für das angenehme und anregende Arbeitsklima bedanken. Mein besonderer Dank gilt Christine für fachliche Diskussionen und Sandra S. für Unterstützung im Labor und am REM.

Wissenschaftlichen Hilfskräften und Praktikanten danke ich für ausgezeichnete praktische Arbeiten: Sandra B., Harald, Matthias Bu., Bertil, Dana, Melanie und v.a. Matthias Bo., dessen Unterstützung in der Anfangsphase der Arbeit besonders wichtig gewesen ist.

Außerdem danke ich den Kollegen am Fraunhofer-Institut für Silicatforschung. Besonders Anke gilt mein herzlicher Dank für die fachliche Unterstützung am TEM und die nötige große Geduld. Herrn Henkel danke ich für die Durchführung thermogravimetrischer Untersuchungen, Herrn Werner Hopp und Herrn Flegler für die Elementaranalytik durch ICP-AES und RFA. Dankeschön an Jutta Schindler für die Anfertigung der TEM-Proben und an Manfred für die Hilfsbereitschaft bei der Niederdruck-REM-Analytik. Herrn Jürgen Meinhard gilt mein Dank für die Unterstützung bei der Auswertung der Elektronenbeugung, Andreas für die Hilfe bei der quantitativen Röntgenphasenanalyse.

Mein Dank gilt Jens Götze vom Mineralogischen Institut der TU Bergakademie Freiberg für kathodolumineszenzmikroskopische Untersuchungen und Alexander Becker (Universität Bochum) für die Durchführung der Synchrotron XRD-Analytik.

Für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Schwerpunktprogramms 1117 „Prinzipien der Biomineralisation“ bin ich der DFG zu Dank verpflichtet.

Olaf Graßmann  
Neubergstraße 36  
97072 Würzburg

### **Persönliche Angaben**

geboren am: 26. September 1972 in Leverkusen  
Familienstand: ledig  
Nationalität: deutsch

### **Schulbildung**

1980 - 1983 Deutsche Schule Bombay, Indien  
1983 - 1992 Nicolaus-Cusanus-Gymnasium, Bergisch Gladbach, Juni 1992 Abitur

### **Zivildienst**

9/1992 - 10/1993 Johanniter-Unfall-Hilfe, Bergisch Gladbach

### **wissenschaftlicher Werdegang**

4/1994 - 7/1996 Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn  
Studium der Geologie und Mineralogie  
8/1996 - 11/1999 Technische Universität Bergakademie Freiberg  
Studienschwerpunkt: Technische Mineralogie  
3/1999 - 11/1999 Diplomarbeit: Herstellung biokeramischer Funktionsschichten und Schichtcharakterisierung nach Langzeitkontakt mit simulierter Körperflüssigkeit  
1/2000 - 12/2002 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fraunhofer-Institut für Silicatforschung (ISC) Würzburg  
seit 1/2000 Promotion am Lehrstuhl für Silicatchemie, Bayerische Julius-Maximilians-Universität Würzburg: Biomimetische Materialabscheidung in funktionalisierten Hydrogelmatrices

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, daß ich die Dissertation „Biomimetische Materialabscheidung in funktionalisierten Hydrogelmatrices“ selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ich erkläre außerdem, daß diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsvorhaben vorgelegen hat.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsgesuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Würzburg, den 30. Mai 2003

(Olaf Graßmann)