

## Biom mineralisation

### Morphosynthese lamellierter perlmuttartiger $\text{CaCO}_3$ -Dünnschichten und -Beschichtungen\*\*

Dirk Volkmer,\* Marc Harms, Laurie Gower und  
Andreas Ziegler

$\text{CaCO}_3$  gehört zu den am weitesten verbreiteten biogenen Mineralien. Zum Aufbau schützender Schalen und Gehäuse verwenden Organismen hauptsächlich die thermodynamisch stabilsten  $\text{CaCO}_3$ -Polymorphe, d.h. Calcit oder Aragonit.<sup>[1]</sup> Unter den vielfältigen komplexen Formen und Architekturen natürlich vorkommender Biomineralien galt das besondere Interesse der Wissenschaftler seit jeher der Struktur und den Eigenschaften des Perlmutts, der irisierenden Innenschicht der Molluskenschale. Perlmutter besteht aus Stapeln tafelförmiger Aragonitkristalle, die mit einer dünnen organischen Matrix durchsetzt sind. Untersuchungen zur Ultrastruktur des Perlmutts legen nahe, dass Mineralbrücken zwischen benachbarten Aragonit-Kristallschichten existieren, die eine

gleichförmige Coorientierung der Kristalle über weite Distanzen bewirken.<sup>[2]</sup> Diese einzigartige Kristalltextur von Perlmutter führt zu ungewöhnlichen Materialeigenschaften, z.B. Zähigkeit, Korrosionsbeständigkeit und dem charakteristischen Glanz.<sup>[3]</sup> Bemerkenswerterweise findet sich eine ähnliche lamellierte Kristallarchitektur in (fossilen) Brachiopoden, die allerdings aus dünnen Calcit- anstelle von Aragonitschichten besteht.<sup>[4,5]</sup>

Viele Arbeitsgruppen haben sich mit der Perlmutter-Biosynthese beschäftigt, um zu verstehen, wie Mollusken das  $\text{CaCO}_3$ -Polymorph selektieren und wie sie die Größe und Gestalt individueller Kristalle und deren Integration in ein ziegelbauartiges Gebilde gezielt steuern. Es wurde beispielsweise vorgeschlagen, dass die organische Matrix ein Templat bildet, das die Abscheidung einer ersten Aragonit-Kristallschicht bewirkt.<sup>[6]</sup> Rekonstruktionsexperimente<sup>[7]</sup> unter Verwendung von Makromolekülen, die von mehreren Stellen einer demineralisierten Molluskenschale extrahiert wurden, lassen darauf schließen, dass die Selektion des  $\text{CaCO}_3$ -Polymorphs durch spezifische lösliche Peptide mit einem ungewöhnlich hohen Anteil an sauren Aminosäure-Seitenketten gesteuert wird.<sup>[8]</sup> Modellsysteme aus selbstorganisierten Monoschichten (self-assembled monolayers, SAMs) von an Gold- oder Silberoberflächen gebundenen, Carboxylat-terminierten Alkylthiolen demonstrieren eindrucksvoll, dass die Wachstumsrichtung von Calcitkristallen durch die geometrische und stereochemische Übereinstimmung der Carboxylatgruppen der immobilisierten Monoschicht mit der angrenzenden Calcitkristallfläche kontrolliert sein könnte.<sup>[9]</sup> Dieser Ansatz hat allerdings bisher noch nicht zu perlmuttartigen Materialien geführt, die eine Laminatstruktur aufweisen und bei denen eine Kontrolle sowohl der Wachstumsrichtung als auch der Selektion des Kristallpolymorphs erreicht wurde. Komplementäre Untersuchungen in unserer Arbeitsgruppe<sup>[10]</sup> und in anderen Arbeitsgruppen,<sup>[11]</sup> bei denen nichtimmobilisierte Monoschichten aus amphiphilen Makrocyclen verwendet wurden, zeigen, dass die durchschnittliche Ladungsverteilung auf der Templatoberfläche der ausschlaggebende Faktor für die Selektion von Kristallpolymorph und -orientierung ist.

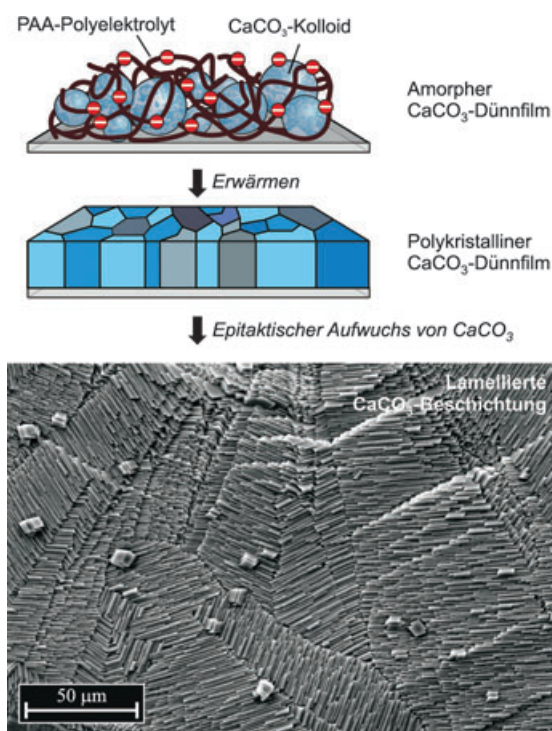
Wir stellen hier eine alternative Methode zur Herstellung hoch organisierter perlmuttartiger Materialien vor (Abbildung 1). Dieser neuartige, morphosynthetische Ansatz<sup>[12]</sup> beruht auf der Bildung eines polykristallinen Calcitdünnschicht, bei dem wir von einer metastabilen, amorphen Vorläuferphase ausgehen. Der polykristalline Dünnschicht fungiert wiederum als Templat, auf dem unter Nichtgleichgewichtsbedingungen hoch orientierte Schichten aus Calcitkristallen aufwachsen.

In einem typischen Experiment fließt eine mit  $\text{CaCO}_3$  übersättigte Lösung kontinuierlich durch eine Perfusionszelle, die sich auf einem Mikroskopisch befindet. Zur Aufrechterhaltung einer konstanten Übersättigung werden 10 mM Lösungen aus  $\text{CaCl}_2$  und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in eine Mischkammer eingeleitet, die mit dem Eingangskanal der Perfusionszelle verbunden ist. (Eine vollständige Beschreibung des experimentellen Aufbaus findet sich in den Hintergrundinformationen.) Im ersten Schritt wird ein amorpher  $\text{CaCO}_3$ -Vorläuferfilm auf der Oberfläche zweier Deckgläser abgeschie-

[\*] Prof. Dr. D. Volkmer, M. Harms  
Anorganische Chemie II  
Universität Ulm  
Albert-Einstein-Allee 11, 89081 Ulm (Deutschland)  
Fax: (+49) 731-50-23039  
E-mail: dirk.volkmer@chemie.uni-ulm.de  
Prof. Dr. L. Gower  
Department of Materials Science & Engineering  
University of Florida  
P.O. Box 116400, Gainesville (USA)  
Priv.-Doz. Dr. A. Ziegler  
Zentrale Einrichtung Elektronenmikroskopie  
Universität Ulm  
Albert-Einstein-Allee 11, 89069 Ulm (Deutschland)

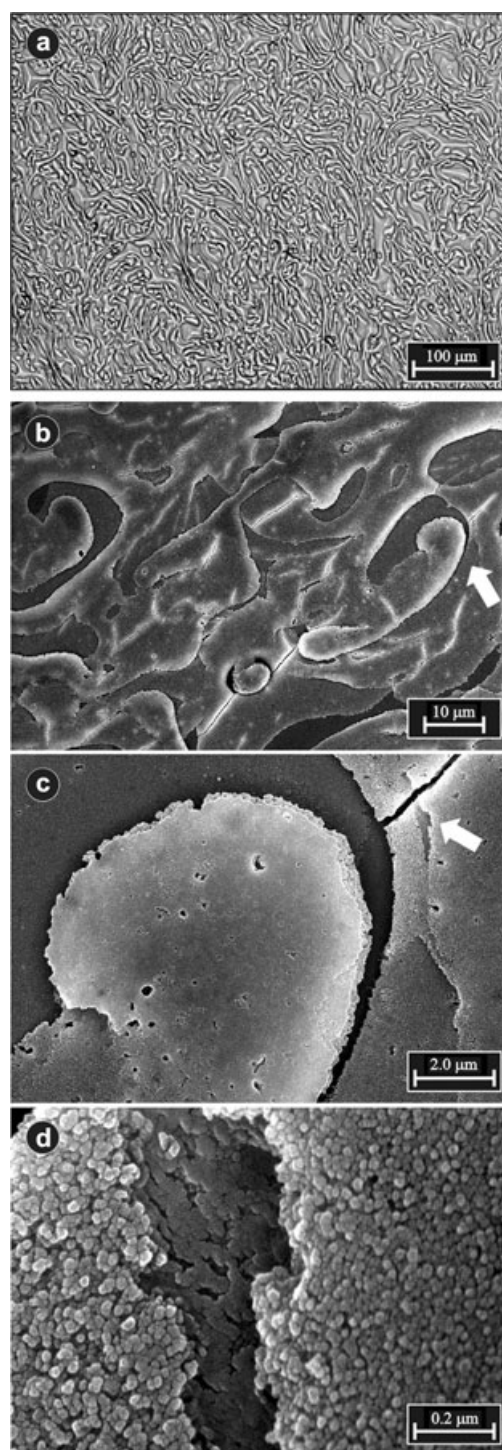
[\*\*] Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft gefördert (DFG-Schwerpunktprogramm 1117, „Prinzipien der Biomineralisation“; DFG-Fördermittel Vo829/2-1). Die Autoren danken R. Oldenbourg (Marine Biological Laboratory, Woods Hole, USA) für hilfreiche Kommentare zur LC-PolScope-Datenanalyse.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.



**Abbildung 1.** Dreistufiger Prozess zur Morphosynthese perlmutterartiger lamellierter  $\text{CaCO}_3$ -Beschichtungen. Im ersten Schritt wird auf einem Glassubstrat ein amorpher, stark hydratisierter  $\text{CaCO}_3$ -Dünnschicht generiert. Durch Erwärmen wird dieser Vorläuferfilm in einen polykristallinen Dünnschicht umgewandelt, der aus einem Mosaik flacher, einkristalliner Calcitdomänen besteht. Im letzten Schritt erfolgt ein epitaktischer Aufwuchs hoch orientierter kristalliner Calcitmono- und -multischichten auf dem darunterliegenden, polykristallinen Dünnschicht.

den, die den Boden und den Deckel der Perfusionskammer bilden. Dabei gibt man zu der  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung ein anionisches Polymer, das als prozessdirigierendes Agens zunächst eine Flüssig-flüssig-Phasenseparation einleitet, woraufhin sich schließlich der amorphe Vorläuferfilm bildet.<sup>[13]</sup> In vorbereitenden Untersuchungen wurden der Einfluss von Molekulargewicht, Konzentration und chemischer Natur des Polyelektrolyten getestet; dabei stellte sich heraus, dass niedermolekulare ataktische Polyacrylsäure (PAA, durchschnittliches  $M_w = 2100 \text{ g mol}^{-1}$ ;  $8.0 \times 10^{-3} \text{ Gew. \%}$ ) zur Stabilisierung amorpher  $\text{CaCO}_3$ -Vorläuferfilme am besten geeignet ist. Der amorphe Dünnschicht zeigt charakteristische Schwankungen der optischen Dichte („Mäandertextur“, Abbildung 2a). Elektronenmikroskop-Aufnahmen (Abbildung 2b–d) unterschiedlicher Filmregionen zeigen, dass die Mäandertextur auf einer ungleichförmigen Verteilung granulöser Substanz beruht, vermutlich hervorgerufen durch eine turbulente Strömung in der Perfusionszelle. Bei stärkeren Vergrößerungen wird deutlich sichtbar, dass der amorphe Dünnschicht aus aggregierten Kolloidpartikeln mit einer schmalen Größenverteilung von 20–30 nm besteht. Das IR-Spektrum eines amorphen Dünnschichtes zeigt eine breite Doppelbande bei 1479 und  $1419 \text{ cm}^{-1}$  sowie eine zusätzliche schwache Bande bei  $675 \text{ cm}^{-1}$ . Das Ergebnis zeigt, dass die Kolloidpartikel hauptsächlich aus amorphem  $\text{CaCO}_3$  bestehen.<sup>[14]</sup>



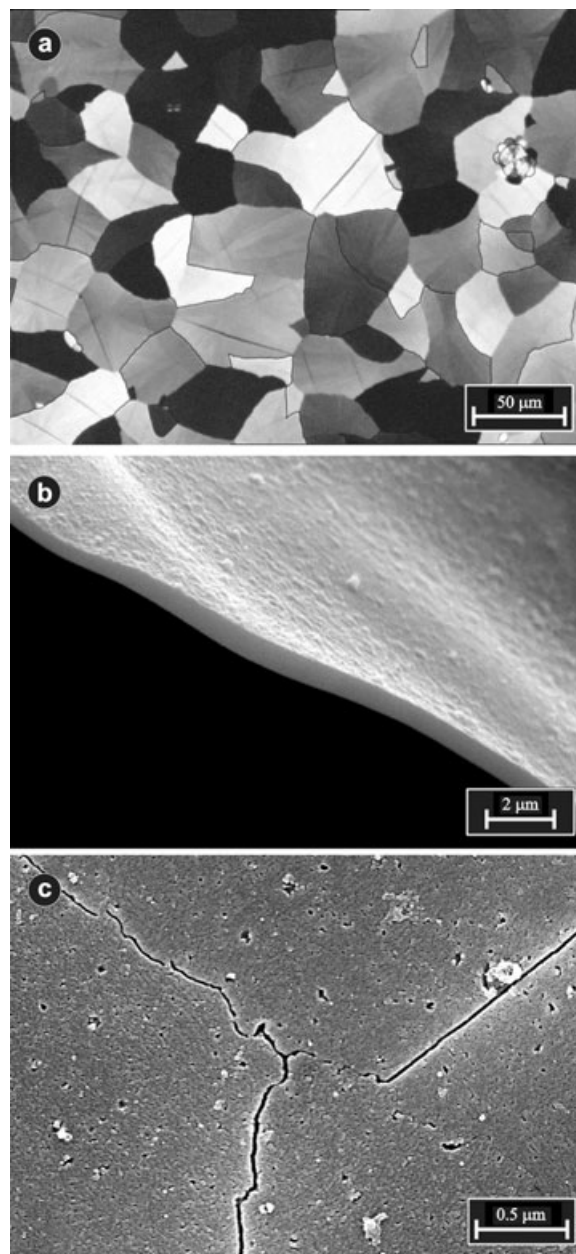
**Abbildung 2.** a) Optische Textur eines amorphen  $\text{CaCO}_3$ -Vorläuferfilmes, der sich nach 45 min auf einem Deckgläschen bildet, das von einer übersättigten  $\text{CaCO}_3$ -Lösung (10 mM  $\text{CaCl}_2$ , 10 mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $8.0 \times 10^{-3} \text{ Gew. \%}$  PAA ( $M_w = 2100 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $T = 295 \text{ K}$ )) mit einer Flussgeschwindigkeit von  $0.75 \text{ mL min}^{-1}$  umspült wird. (Hellfeldmikroskop-Aufnahme, digitale Kontrastverstärkung). b–d) Rasterelektronenmikroskop-Aufnahmen des Filmes bei verschiedenen Vergrößerungen, auf denen eine Mäandertextur aus aggregierten amorphen  $\text{CaCO}_3$ -Kolloidpartikeln zu erkennen ist. (Die weißen Pfeile markieren die ungefähre Lage des Bildausschnittes in der nächsthöheren Vergrößerungsstufe.)



Wird die Mutterlauge entfernt und das beschichtete Substrat bei Raumtemperatur mehrere Tage getrocknet, erfolgt eine partielle Umwandlung des  $\text{CaCO}_3$ -Dünnschlimes vom amorphen in den kristallinen Zustand. Eine vollständige Umwandlung wird erreicht, wenn man den amorphen Vorläuferfilm zwei Stunden auf  $400^\circ\text{C}$  erhitzt. Man erhält so einen gleichmäßig dünnen (typisch: 500–700 nm), optisch doppelbrechenden Film, dessen Polarisationsmikroskop-Abbildung eine charakteristische Mosaikstruktur zeigt (Abbildung 3a). Homogen erscheinende Domänen sind hier durch Risse voneinander getrennt, die sich während des Trocknens und des Erwärmens bilden. Rasterelektronenmikroskop-Aufnahmen (Abbildung 3b,c) zeigen, dass die amorphen  $\text{CaCO}_3$ -Kolloidpartikel miteinander verschmelzen und dabei einen nahezu homogenen, kristallinen Dünnschlilm bilden. Diese Ergebnisse werden durch eine Abbildung der Filmoberfläche mit Rasterkraftmikroskopie ergänzt (siehe Hintergrundinformationen), die unmittelbar erkennen lässt, dass die Filmoberfläche auf atomarer Ebene nicht glatt ist, sondern eine Rauigkeit aufweist (quadratischer Mittelwert der Oberflächenrauigkeit  $R_q = 16.90 \text{ nm}^{-1}$ ), die mit der Größe der  $\text{CaCO}_3$ -Kolloidpartikel im Vorläuferfilm gut korreliert.

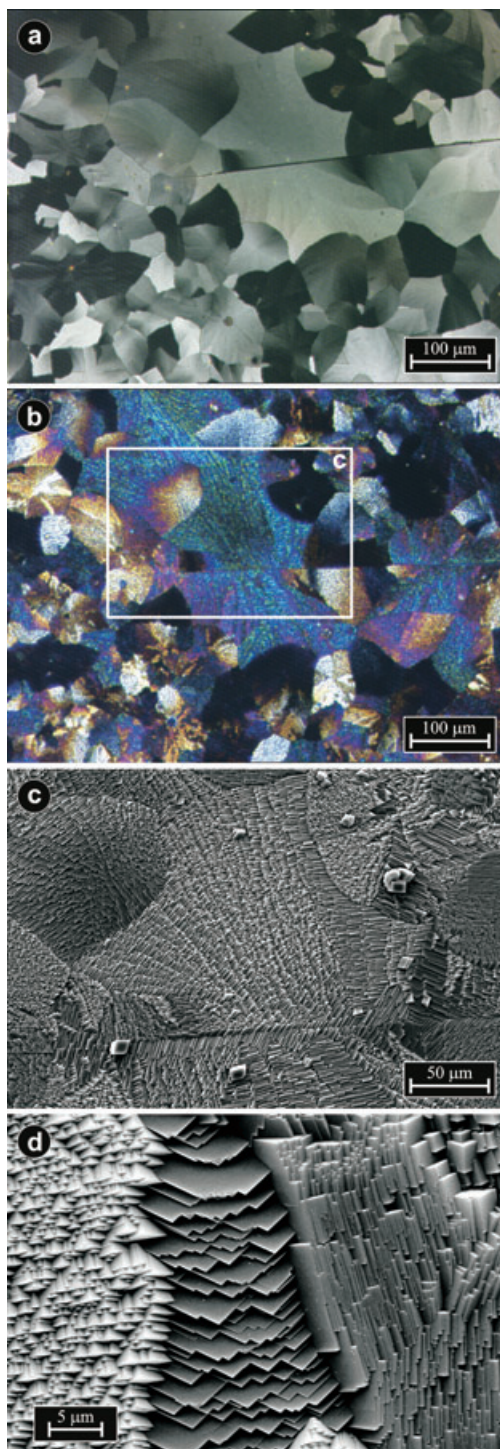
Die Charakterisierung der Mineralphase erfolgte durch IR-Spektroskopie und Röntgenbeugung. Die im IR-Spektrum sichtbaren Banden bei  $\tilde{\nu} = 1415, 875$  und  $711 \text{ cm}^{-1}$  sind charakteristisch für kristallinen Calcit.<sup>[14]</sup> Die Röntgenbeugung ergibt scharfe Signale, die eindeutig dem Kristallsystem von Calcit zugeordnet werden können (siehe Hintergrundinformationen).<sup>[15]</sup> Darüber hinaus gibt es keine Anzeichen für die Bildung der übrigen  $\text{CaCO}_3$ -Polymorphe (Aragonit, Vaterit) während des Erwärmens. Die relativen Intensitäten der beobachteten Röntgenreflexe weichen nur wenig von denen einer pulverförmigen Calcitreferenzprobe ab. Erwähnenswert ist hier noch am ehesten die verminderte Intensität des (10.4)-Reflexes; insgesamt zeigt der polykristalline Calcitdünnschlilm jedoch keine außergewöhnliche Bevorzugung einer bestimmten Kristallorientierung.

Die digitale Bildanalyse von Polarisationsmikroskop-Aufnahmen, bei denen der polykristalline Calcitdünnschlilm zwischen gekreuzten Polarisatoren photographiert wurde, ergibt, dass jeder individuellen Domäne ein nahezu konstanter Grauwert zugeordnet werden kann. Dieses Verhalten ist leicht zu verstehen, wenn man annimmt, dass jede Domäne aus einem Calciteinkristall besteht, dessen Orientierung sich von der seines Nachbarn unterscheidet und der aus einem singulären Keimbildungsvorgang während der Umwandlung des amorphen Vorläuferfilms hervorgeht. Um die Einkristallnatur der Domänen zu belegen, wurden  $\text{CaCO}_3$ -Aufwuchsexperimente durchgeführt, wobei der polykristalline Dünnschlilm als iso-epitaktisches Substrat fungierte.<sup>[16]</sup> Dabei wurde ein Deckglas, das einen polykristallinen Dünnschlilm trug, erneut dem kontinuierlichen Strom einer übersättigten  $\text{CaCO}_3$ -Lösung ausgesetzt, die nun allerdings keinen PAA-Inhibitor enthielt. Auf der Oberfläche des polykristallinen Dünnschlilms bildeten sich einfache und mehrschichtige Lagen aus hoch orientierten Calcitkristallen, die zu einem erkennbaren Irisieren der Probe führten. Markierte Flächen von polykristallinen Dünnschlilmen wurden daraufhin vor und nach dem Calcitbewuchs mit Polarisations- und Rasterelektronen-



**Abbildung 3.** a) Polarisationsmikroskop-Abbildung eines polykristallinen  $\text{CaCO}_3$ -Dünnschlilms, der aus dem amorphen Vorläuferfilm durch zweistündiges Erhitzen auf  $400^\circ\text{C}$  hergestellt wird. Die beobachtete Mosaikstruktur des Dünnschlilms ist auf das Vorliegen diskreter Domänen zurückzuführen, die jeweils aus einem flachen Calciteinkristall bestehen. Der typische Durchmesser der Domänen liegt im Bereich von 50 bis  $200 \mu\text{m}$ . b, c) Rasterelektronenmikroskop-Abbildung des polykristallinen  $\text{CaCO}_3$ -Dünnschlilms. Die Filmdicke wurde in Bereichen der Probe ermittelt, an denen sich der Film zufällig vom Substrat abgelöst hatte. Die durchschnittliche Filmdicke beträgt  $600 \text{ nm}$  ( $\pm 100 \text{ nm}$ ).

mikroskopie näher untersucht (Abbildung 4). Die Aufnahmen lassen klar erkennen, dass die Grundierung aus flachen Calcitdomänen die Orientierung der aufwachsenden Calcitkristallschicht dirigiert. Die Kristalltextur ändert sich abrupt an der Grenzlinie zwischen benachbarten Domänen, innerhalb einer individuellen Domäne bleibt sie jedoch bestehen.



**Abbildung 4.** Hoch orientierte, lamellierte Calcitschichten, die epitaktisch auf einem Calcitdünnsfilm aufwachsen. Mikroskop-Aufnahme eines polykristallinen Calcitdünnsfilmes, der zwischen gekreuzte Polarisatoren montiert wurde: a) vor und b) nach Calcitaufwuchs. Raster-Elektronenmikroskop-Aufnahme von Details der Kristallstruktur (c,d). d) Ausschnitt einer Calcitschicht, an deren Domänengrenzen ein abrupter Wechsel der Kristallorientierung erfolgt. Die Wachstumsrichtungen wurden versuchsweise bestimmt, indem die Projektionen der Winkel zwischen den Calcit rhomboederflächen in der Aufnahme vermessen und mit berechneten Werten verglichen wurden (links:  $\langle 00.1 \rangle$ , Mitte:  $\langle 01.8 \rangle$ , rechts:  $\langle 11.0 \rangle$ ).

In vielen Domänen sind Calcitkristalle zu Stapeln aus perfekt coorientierten Plättchen miteinander verwachsen. Da die rhomboedrische Kristallmorphologie von Calcit in allen Fällen erhalten bleibt, sind die Wachstumsrichtungen in unterschiedlichen Domänen leicht zu bestimmen.<sup>[17]</sup> Abbildung 4c,d zeigt repräsentative Details von orientierten Kristallschichten, die in der beschriebenen Weise erhalten wurden.

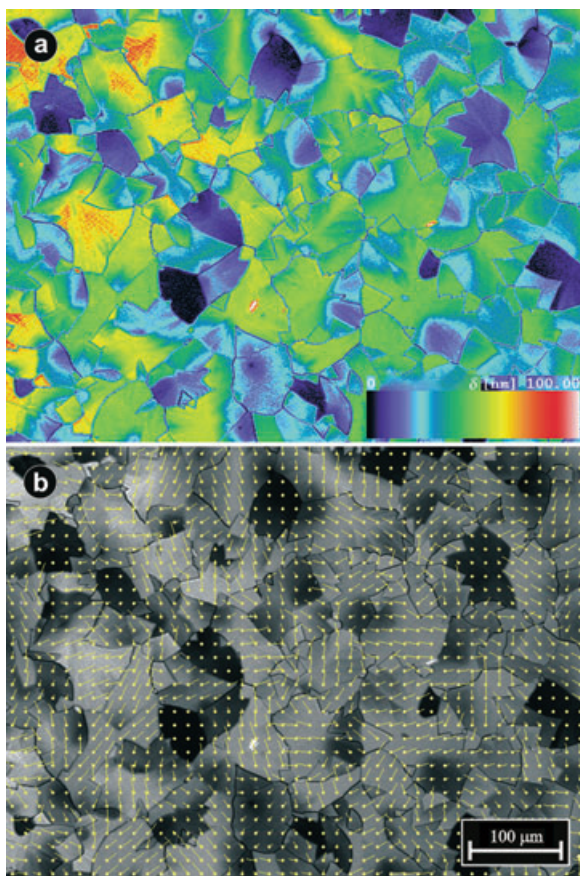
Wird der Aufwuchs der Calcitschicht auf den polykristallinen Dünnsfilm nach 45 Minuten unterbrochen, haben die Kristalle eine enge Größenverteilung mit einer durchschnittlichen Kristalldicke von 700 bis 1200 nm. (Die so erreichbare maximale Filmdicke beträgt nach zwölf Stunden ca. 4.5–5.8  $\mu\text{m}$ .) Wir gehen zurzeit davon aus, dass die Kombination aus mesoskopischer Größe und parallel-periodischer Anordnung der Kristalle zum irisierenden Glanz der Proben führt.

Für tiefere Einblicke in die strukturdirigierende Funktion der polykristallinen  $\text{CaCO}_3$ -Dünnsfilme, die sich aus dem amorphen Vorläuferfilm bilden, haben wir ein neuartiges Bildverarbeitungssystem zur Charakterisierung der optischen Doppelbrechung angewendet (LC-PolScope).<sup>[18]</sup> Mit diesem Messsystem können Gangunterschied und Ausrichtung der langsamen optischen Kristallachse visualisiert und innerhalb weniger Sekunden für jeden Bildpunkt des Charge-coupled-Device (CCD)-Sensors quantitativ bestimmt werden. Da Calcit ein optisch einachsiges, doppelbrechendes Material ist, hängt der Gangunterschied für ein flaches Calcitplättchen nur von der Dicke der Probe und der Orientierung der kristallographischen  $c$ -Achse (= optische Achse) in Bezug auf die Richtung des durch die Probe fallenden, polarisierten Strahlenbündels ab. Der Gangunterschied  $\delta$  (in nm) für ein gleichförmig dünnes Calcitplättchen ist gegeben durch Gleichung 1,<sup>[19]</sup> wobei  $\vartheta$  der Winkel zwischen der optischen Achse

$$\delta = \rho(n_e - n_o)\sin^2\vartheta \quad (1)$$

und der Ausbreitungsrichtung des Lichtstrahls ist,  $\rho$  (in nm) die Dicke des Kristallplättchens und  $(n_e - n_o)$  der Wert für die optische Doppelbrechung von Calcit (ca.  $-0.174$  bei  $\lambda = 546.5 \text{ nm}$ ).<sup>[20]</sup> Durch simultane Messung des Gangunterschiedes für viele unterschiedliche Calcitdomänen erhält man daher eine Information über die relative Häufigkeit, mit der verschiedene Kristallorientierungen in dem polykristallinen Dünnsfilm auftreten, der aus der amorphen Vorstufe hervorgeht. Bedauerlicherweise ist die Zuordnung des  $\vartheta$ -Wertes zu einer kristallographischen Orientierung bei optisch einachsigen Materialien nicht eindeutig. Es ist aber möglich, Erwartungswerte des Gangunterschiedes für verschiedene Calcitkristallorientierungen zu berechnen, vorzugsweise für solche, die in Calcitaufwuchsexperimenten häufig beobachtet werden. Abbildung 5a zeigt eine Pseudo-Farbdarstellung des Gangunterschiedes  $\delta$  in einem polykristallinen Dünnsfilm, der mit dem LC-PolScope an jedem Bildpunkt gemessen wurde. Es ist unmittelbar ersichtlich, dass sich der experimentelle  $\delta$ -Wert von Domäne zu Domäne ändert, innerhalb einer individuellen Domäne jedoch einen konstanten Wert annimmt. (Einige Calcitdomänen zeigen eine optisch zweiachsige Doppelbrechung, die aber vermutlich durch Spannungen induziert wird, die beim Schrumpfen der Probe





**Abbildung 5.** a) LC-PolScope-Abbildung eines polykristallinen Calcitdünnschlimes (Gangunterschied in Pseudo-Farbdarstellung). b) Grauwert-Abbildung des Gangunterschiedes mit einer Überlagerung von kurzen Linien, die die Richtung der langsamen optischen Achse an mehreren Punkten der Probe kennzeichnen. (Die Darstellung der langsamen Achse erfolgte hier für jeden fünfzehnten Bildpunkt in der horizontalen und vertikalen Richtung des ursprünglichen Videobildes).

während des Trocknens und der Umwandlung des hydratisierten amorphen Vorläufers in den wasserfreien polykristallinen Dünnschlilm entstehen.) Die am häufigsten beobachteten Gangunterschiede betragen  $80(\pm 5)$ ,  $49(\pm 4)$ ,  $20(\pm 3)$ ,  $15(\pm 2)$  und  $0(\pm 2)$  nm. Die dazu am besten passenden berechneten Gangunterschiede sind  $82.1\{01.2\}$ ,  $50.9\{01.4\}$ ,  $20.2\{10.10\}$ ,  $13.6\{01.8\}$ , und  $0\{00.1\}$  für eine Probendicke von 600 nm (wobei die Kristallfläche, die parallel zum Glassubstrat, d.h. senkrecht zum Lichtstrahl orientiert ist, in geschweiften Klammern angegeben ist).<sup>[21]</sup> Abbildung 5b zeigt denselben Ausschnitt des Dünnschlimes, wobei die Richtung der langsamen Achse der Doppelbrechung an mehreren Punkten durch kleine Vektorsymbole gekennzeichnet ist. Auch hier ist festzustellen, dass die meisten Domänen innerhalb des Dünnschlimes eine einheitliche Orientierung aufweisen.

Die LC-PolScope-Abbildungen der polykristallinen Calcitdünnschlime lassen zwei wichtige Eigenschaften erkennen: Zum einen gibt es starke Hinweise darauf, dass die polykristallinen Calcitdünnschlime tatsächlich aus flachen Einkristallen bestehen. Die Kristallorientierung wechselt an den Domängengrenzen, insgesamt wird jedoch im Einklang mit den

Ergebnissen der Röntgenbeugungsexperimente keine bestimmte Orientierung stark bevorzugt. Zum anderen zeigt sich, dass die experimentell ermittelten Gangunterschiede mit den berechneten Werten hervorragend übereinstimmen, wenn man Kristallorientierungen zugrunde legt, die in Aufwuchsexperimenten beobachtet werden (Abbildung 4d). Wir folgern aus den experimentellen Befunden, dass der Calcitaufwuchs höchstwahrscheinlich iso-epitaktisch erfolgt. Dieses Ergebnis ist ein wenig überraschend, wenn man bedenkt, dass der zugrundeliegende polykristalline Dünnschlilm eine mesoskopische Oberflächenrauigkeit aufweist (Abbildung 3c).

Über die Herstellung biologisch inspirierter Lamine, die das Architekturprinzip von Perlmutt – wenn auch auf kürzeren Längenskalen – imitieren, wurde vor kurzer Zeit berichtet.<sup>[22]</sup> In Gegenwart von PAA wurden unter Langmuir-Monoschichten amorphe  $\text{CaCO}_3$ -Dünnschlime erhalten,<sup>[23]</sup> deren Bildung in situ am Synchrotron mithilfe von Reflektivitätsstudien untersucht wurde.<sup>[23b]</sup> Der Einfluss funktionaler Gruppen aus Biopolymeren auf die Bildung von  $\text{CaCO}_3$ -Dünnschlimen wurde ebenfalls untersucht,<sup>[24]</sup> und es wurde demonstriert, dass sich Aragonitdünnschlime in Gegenwart von  $\text{Mg}^{2+}$ -Ionen und Poly-Asp (Asp = Asparaginsäure) auf Chitosan-Matrices abscheiden lassen.<sup>[25]</sup> Bislang hat keiner dieser Ansätze zu hoch orientierten lamellierten Kristallarchitekturen geführt, die mit den in dieser Arbeit vorgestellten vergleichbar wären. Unsere Untersuchungen zeigen, dass perlmuttartige  $\text{CaCO}_3$ -Dünnschlime und -Beschichtungen über einen morphosynthetischen Ansatz<sup>[26]</sup> realisierbar sind und dass hierfür keine präorganisierte organische Matrix benötigt wird. Die wesentlichen Schritte beruhen auf der Umwandlung eines amorphen  $\text{CaCO}_3$ -Vorläuferfilmes in einen polykristallinen Calcitdünnschlilm, der wiederum als Templat für das epitaktische Aufwachsen von hoch orientierten Schichten aus gleichförmigen Calcitplättchen wirkt. Diese Strategie führt zu einem generellen und technisch praktikablen Zugang zu hoch geordneten Materialien, die aus Mikrokristallen mit typischen Abmessungen von einigen zehn bis einigen hundert Nanometern bestehen. Solche Materialien könnten für technische Anwendungen in der Photonik äußerst interessant sein, z.B. für Beugungsgitter,<sup>[27]</sup> photonische Bandlücken-Materialien<sup>[28]</sup> oder für farbige, auf Strukturfarben anstelle von Pigmenten basierende Beschichtungen.<sup>[29]</sup>

Im Hinblick auf ein tieferes Verständnis der Bildung hoch organisierter Kristallstrukturen in Organismen könnten unsere Untersuchungen zu einem alternativen Konzept führen, das der allgemein akzeptierten Theorie einer strukturdirektierenden Funktion organischer Template in der Biomineralisation entgegensteht: Es wäre demnach vorstellbar, dass hoch organisierte Kristallarchitekturen wie das Perlmutt oder die prismatische Calcitschicht spontan wachsen, sobald sich eine erste Kristallschicht gebildet hat, auch ohne dass weitere ausgeklügelte Kontrollmechanismen dazu notwendig wären.<sup>[30]</sup> Allerdings ist die Umwandlung einer amorphen Vorstufe in eine Kristallphase ein Schlüsselschritt, der auch bei vielen natürlichen Biomineralisationsvorgängen auftritt. Die Mechanismen, durch die diese spezielle Umwandlung in Organismen gesteuert wird, sind noch weitgehend unbekannt.<sup>[31]</sup>

Ein nichtdestruktives Bildverarbeitungssystem wie das LC-Polyscope, mit dem die Doppelbrechung einer Probe in Echtzeit erfasst werden kann, ist eine wertvolle Ergänzung der Analysewerkzeuge für die In-situ-Charakterisierung des Übergangs von Materialien vom amorphen in den festen Zustand. Zurzeit suchen wir nach geeigneten experimentellen Bedingungen für den Erhalt gleichmäßiger biomimetischer  $\text{CaCO}_3$ -Architekturen aus Aragonit.

Eingegangen am 22. Juli 2004

Online veröffentlicht am 15. Dezember 2004

**Stichwörter:** Amorphe Materialien · Bioanorganische Chemie · Biomineralisation · Kristallwachstum · Rastersondenverfahren

- [1] H. A. Lowenstam, S. Weiner, *On Biomineralization*, Oxford University Press, New York, **1989**.
- [2] a) S. W. Wise, *Science* **1970**, *167*, 1486–1488; b) H. K. Erben, N. Watabe, *Nature* **1974**, *248*, 128–130; c) T. E. Schaffer, C. Ionescu-Zanetti, R. Proksch, M. Fritz, D. A. Walters, N. Almqvist, C. M. Zaremba, A. M. Belcher, B. L. Smith, G. D. Stucky, D. E. Morse, P. K. Hansma, *Chem. Mater.* **1997**, *9*, 1731–1740; d) X. Su, A. M. Belcher, C. M. Zaremba, D. E. Morse, G. D. Stucky, A. H. Heuer, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 3106–3117.
- [3] a) J. D. Currey, *Proc. R. Soc. London Ser. B* **1977**, *196*, 443–463; b) A. P. Jackson, J. F. V. Vincent, R. M. Turner, *Proc. R. Soc. London Ser. B* **1988**, *234*, 415–440; c) A. G. Evans, Z. Suo, R. Z. Wang, I. A. Aksay, M. Y. He, J. W. Hutchinson, *J. Mater. Res.* **2001**, *16*, 2475–2484.
- [4] K. M. Towe, C. W. Harper, *Science* **1966**, *154*, 153–155.
- [5] Eine vergleichbare Architektur findet sich in Spezies, die nicht zu den Mollusken zählen, z.B. den Moostierchen (Bryozoa, Lophotrochozoen), deren lamellierte Calcitplättchen gelegentlich auch als „Halbperlmutter“ bezeichnet werden, da die Strukturen im Vergleich zu denen von Perlmutter in Mollusken weniger gut ausgebildet sind. M. J. Weedon, P. D. Taylor, *Biol. Bull.* **1995**, *188*, 281–292.
- [6] a) S. Weiner, W. Traub, *Phil. Trans. R. Soc. London B* **1984**, *304*, 425–433; b) S. Mann, *Nature* **1988**, *332*, 119–124; c) Y. Levi-Kalishman, G. Falini, L. Addadi, S. Weiner, *J. Struct. Biol.* **2001**, *135*, 8–17.
- [7] a) G. Falini, S. Albeck, S. Weiner, L. Addadi, *Science* **1996**, *271*, 67–69; b) Y. Levi, S. Albeck, A. Brack, S. Weiner, L. Addadi, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 389–396.
- [8] a) P. E. Hare, *Science* **1963**, *139*, 216–217; b) B. A. Gotliv, L. Addadi, S. Weiner, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 522–529.
- [9] a) J. Aizenberg, J. A. Black, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4500–4509; b) A. M. Travaille, L. Kaptijn, P. Verwer, B. Hulsken, J. A. A. W. Elemans, R. J. M. Nolte, H. van Kempen, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11571–11577.
- [10] a) D. Volkmer, M. Fricke, D. Vollhardt, S. Siegel, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2002**, 4547–4554; b) D. Volkmer, M. Fricke, C. Agena, J. Mattay, *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 2249–2259.
- [11] a) M. J. Lochhead, S. R. Letellier, V. Vogel, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 10821–10827; b) P. Calvert, S. Mann, *Nature* **1997**, *386*, 127–129.
- [12] D. Volkmer, S. Tugulu, M. Fricke, T. Nielsen, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 60–64; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 58–61.
- [13] L. B. Gower, D. J. Odom, *J. Cryst. Growth* **2000**, *210*, 719–734.
- [14] Die starke Bande bei  $\tilde{\nu}_3 = 1415 \text{ cm}^{-1}$  wird der asymmetrischen C–O–Streckschwingung von  $\text{CO}_3^{2-}$  im Calcit zugeordnet, die Bande bei  $\tilde{\nu}_2 = 875 \text{ cm}^{-1}$  der  $\text{CO}_3^{2-}$ -Deformationsmode und die Bande bei  $\tilde{\nu}_4 = 711 \text{ cm}^{-1}$  der O–C–O–Biegeschwingung im kristallinen Calcit. F. A. Andersen, L. Brecevic, *Acta Chem. Scand.* **1991**, 1018–1024.
- [15] Kristallographische Indices werden hier in der Schreibweise mit dreifachem Index,  $(hkl)$ , angegeben und basieren auf der hexagonalen Aufstellung der Calcitelementarzelle ( $R\bar{3}c$ ,  $a = 4.96$ ,  $c = 17.002 \text{ Å}$ ).
- [16] Diese Technik wurde auch schon von anderen Arbeitsgruppen angewendet, um die Kristallorientierung in biogenen Kristallen zu bestimmen, bei denen wegen des Vorliegens einer Nichtgleichgewichtsmorphologie klar erkennbare Kristallgrenzflächen fehlen: a) K. Okazaki, R. M. Dillaman, K. M. Wilbur, *Biol. Bull.* **1981**, *161*, 402–415; b) J. Aizenberg, S. Albeck, S. Weiner, L. Addadi, *J. Cryst. Growth* **1994**, *142*, 156–164.
- [17] D. D. Archibald, S. B. Qadri, B. P. Gaber, *Langmuir* **1996**, *12*, 538–546. Die Projektion von Rhomboederflächen auf eine Bildebene ergibt charakteristische Flächenwinkel, auf deren Basis unterschiedliche Kristallorientierungen in vielen Fällen bestimmt werden können. Es ist jedoch zu beachten, dass diese Methode nur dann zuverlässige Ergebnisse liefert, wenn die Probe exakt senkrecht zur Beobachtungsrichtung orientiert ist und dabei gleichzeitig die perspektivischen Verzeichnungen des optischen Systems minimiert werden.
- [18] a) R. Oldenbourg, G. Mei, *J. Microsc.* **1995**, *180*, 140–147; b) R. Oldenbourg, *Nature* **1996**, *381*, 811–812.
- [19] M. Born, E. Wolf, *Principles of Optics*, 6. Aufl., Pergamon, Oxford, **1986**, S. 699. Gegenüber Gleichung (36) aus dem Lehrbuch fehlt in der hier angegebenen Gleichung der Faktor  $(2\pi/\lambda)$ . Man erhält dann  $\delta$  direkt in der Einheit nm, wenn man  $\rho$  ebenfalls in nm einsetzt.
- [20] G. Gosh, *Opt. Commun.* **1999**, *163*, 95–102.
- [21] Da die optische Achse im Calcit mit der kristallographischen  $c$ -Achse zusammenfällt, kann der Winkelparameter  $\vartheta$  erhalten werden, indem Winkel aus Paaren von  $(001)$ - und  $(hkl)$ -Kristallebenen berechnet werden, die über ihre Millerschen Indices beschrieben werden. Die Berechnungen können bequem mit frei zugänglicher Software durchgeführt werden, die sich unter folgenden Adressen im Internet finden: <http://www.public.asu.edu/~bdegred/Xtalplanes.html> und <http://www.jcrystal.com/steffenweber/JAVA/juvw/JCELL.html>. (Parameter der Calcitelementarzelle:  $a = b = 4.988$ ,  $c = 17.068 \text{ Å}$ ,  $\alpha = \beta = 90^\circ$ ,  $\gamma = 120^\circ$ ). Vollständige analytische Ausdrücke finden sich in den *International Tables for X-Ray Crystallography*, Bd. II, IUCr, Kynoch, Birmingham, **1972**, S. 168. Die berechneten  $\vartheta$ -Werte betragen:  $63.2^\circ$   $\{01.2\}$ ,  $44.7^\circ$   $\{10.4\}$ ,  $90.0^\circ$   $\{11.0\}$ ,  $66.3^\circ$   $\{11.3\}$ ,  $75.8^\circ$   $\{20.2\}$ ,  $48.8^\circ$   $\{11.6\}$ ,  $21.6^\circ$   $\{10.10\}$ ,  $26.3^\circ$   $\{11.8\}$ .
- [22] a) A. Sellinger, P. M. Weiss, A. Nguyen, Y. F. Lu, R. A. Assink, W. L. Gong, J. C. Brinker, *Nature* **1998**, *394*, 256–260; b) Z. Tang, N. A. Kotov, S. Magonov, B. Ozturk, *Nat. Mater.* **2003**, *2*, 413–418.
- [23] a) G. Xu, N. Yao, I. A. Aksay, J. T. Groves, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11977–11985; b) E. DiMasi, V. M. Patel, M. Sivakumar, M. J. Olszta, Y. P. Yang, L. B. Gower, *Langmuir* **2002**, *18*, 8902–8909.
- [24] N. Hosoda, T. Kato, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 688–693.
- [25] A. Sugawara, T. Kato, *Chem. Commun.* **2000**, 487–488.
- [26] S. Mann, G. A. Ozin, *Nature* **1996**, *382*, 313–318.
- [27] J. Aizenberg, D. A. Muller, J. L. Grazul, D. R. Hamann, *Science* **2003**, *299*, 1205–1208.
- [28] A. A. Zakhidov, R. H. Baughman, Z. Iqbal, C. X. Cui, I. Khayrullin, S. O. Dantas, I. Marti, V. G. Ralchenko, *Science* **1998**, *282*, 897–901.
- [29] a) A. R. Parker, R. C. McPhedran, D. R. McKenzie, L. C. Botten, N. A. P. Nicorovici, *Nature* **2001**, *409*, 36; b) S. Kinoshita, S. Yoshiooka, K. Kawagoe, *Proc. R. Soc. London Ser. B* **2002**, *269*, 1417–1421.
- [30] R. Giles, S. Manne, S. Mann, D. E. Morse, G. D. Stucky, P. K. Hansma, *Biol. Bull.* **1995**, *188*, 8–15.
- [31] L. Addadi, S. Raz, S. Weiner, *Adv. Mater.* **2003**, *15*, 959–970.