

# Heterostrukturiertes Calciumcarbonat mit Calcit-Äquatorringen auf sphärischem Vaterit\*\*

Sha-Sha Wang, Andreas Picker, Helmut Cölfen\* und An-Wu Xu\*

Biomineralien sind aus anorganischen und organischen Materialien bestehende, höchst strukturierte Komposite, die von lebenden Organismen gebildet werden. Beispiele hierfür sind Muschelschalen, Korallen, Elfenbein, Seeigelstachel, magnetische Kristalle in magnetotaktischen Bakterien und Knochen. Solch faszinierende Materialien werden aufgrund ihrer außergewöhnlichen Eigenschaften, umweltverträglichen Herstellungsweise und komplexen Strukturen mit hierarchischem Aufbau gerade in der Materialwissenschaft oft als Vorbild herangezogen. In der Biominerallisation wird eine strukturierte Anordnung der zur Verfügung stehenden Ausgangsmaterialien in hoch organisierte Überstrukturen beobachtet. Zusammen mit der Kontrolle über Form, Größe und Phase der anorganischen Komponente vom Nano- bis in den Makrobereich ist dies das wichtigste Merkmal der Biominerallisation.<sup>[1]</sup>

Besonders filigran anmutende Strukturen können hierbei in vielen Fällen nicht durch einen einfachen Amplifikationsprozess von Atomen entstanden sein. Stattdessen wurden sie durch komplexere Umwandlungen im Mesobereich hergestellt.<sup>[2]</sup> Solche Prozesse beginnen mit der Bildung von Nanokristallen, die dann in kontrollierter Weise aggregieren. Diese Kontrolle beruht meistens auf flächenspezifischen Informationen, die die einzelnen Kristalloberflächen beinhalten, z. B. auf Unterschieden der Oberflächenenergie.<sup>[3]</sup>

Um wohldefinierte Kristalle mit einzigartigen Strukturen im Nano- und Mikrometerbereich zu erhalten, ist eine Kontrolle des Kristallisationsprozesses unumgänglich.<sup>[4]</sup> Diese Kontrolle kann durch den Einsatz verschiedenster Additive wie doppelt hydrophilen Blockcopolymeren (DHBCs),<sup>[5]</sup> Biopolymeren,<sup>[6]</sup> synthetischen Makromolekülen,<sup>[7]</sup> Additiven mit geringer Molekülmasse<sup>[8]</sup> oder auch selbstorganisierten Monoschichten<sup>[9]</sup> erreicht werden. Vorangehende Studien konzentrierten sich größtenteils auf die Verwendung

eines einzigen Zusatzstoffes zur Kristallisationskontrolle. Die Kombination zweier unterschiedlicher funktioneller Additive, die zu verschiedenen Reaktionsstufen in das Kristallisationsgeschehen eingreifen, ist dagegen nur spärlich untersucht.<sup>[10]</sup>

Heterostrukturierte Biominerallien mit Domänen aus zwei (oder mehreren) verschiedenen Polymorphen sind in der Natur allgegenwärtig. Piranhaotilite enthalten beispielsweise drei Polymorphe von Calciumcarbonat (Calcit, Vaterit und Aragonit).<sup>[11]</sup> Muschelschalen bestehen aus einer äußeren prismatischen Calcitschicht und einer inneren Schicht aus Aragonitplättchen. Die Koexistenz von mehr als einem  $\text{CaCO}_3$  Polymorph in ein und demselben Partikel wird jedoch sowohl in der Biominerallisation als auch in In-vitro-Kristallisationsexperimenten nur selten beobachtet. Hier berichten wir über außergewöhnlich geformte  $\text{CaCO}_3$ -Kristalle, welche in Gegenwart von Poly(natrium-4-styrolsulfonat) (PSS) und Folsäure (FA; siehe die Hintergrundinformationen, Abbildung S1) über einen nichtklassischen partikelvermittelten Kristallisationsweg entstehen. Wir liefern das erste Beispiel für sphärische Vateritkristalle, die von dreidimensional angeordneten Calcitromboedern äquatorial umgeben sind. Hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (HRTEM) legt in Kombination mit ortsaufgelöster Elektronenbeugung (SAED) nahe, dass die äquatorialen Calcitrinige durch eine In-situ-Umwandlung aus Vateritzwischenstufen entstehen. Unter Berücksichtigung von temporär auftretendem amorphen Calciumcarbonat (ACC) und verzögerten schrittweisen Phasenumwandlungen wird ein Bildungsmechanismus vorgeschlagen und diskutiert. Unsere Beobachtungen können zu einem besseren Verständnis der Kristallisation von heterostrukturierten biomimetischen Materialien beitragen, die durch ein Zusammenspiel von kinetischer und thermodynamischer Kontrolle entstehen.

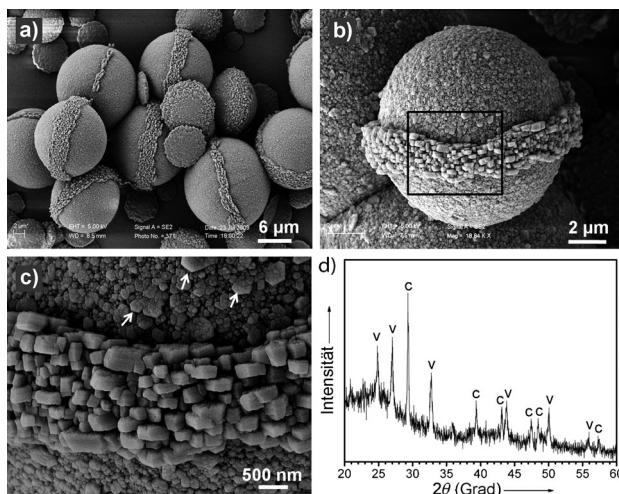
Heterostrukturiertes sphärisches Calciumcarbonat mit Calcit-Äquatorringen wurde mit einer einfachen Gasdiffusionsmethode<sup>[12]</sup> in Gegenwart von PSS und FA erhalten (siehe Experimentalteil in den Hintergrundinformationen). PSS hat aufgrund der deprotonierten Sulfonatgruppen eine hohe negative Ladungsdichte in leicht alkalischem Milieu. Es wurde bereits in mehreren Studien über bioinspirierte Kristallisation als Kristallisationsmodifizierer von anorganischen Mineralien diskutiert.<sup>[13]</sup> FA (auch bekannt als Vitamin B<sub>9</sub>) ist unverzichtbar für viele Körperfunktionen, u. a. Zellteilung und -wachstum sowie DNA-Stabilisierung.<sup>[14]</sup> FA ist in saurem Milieu unlöslich, löst sich aber in alkalischer Umgebung unter Bildung eines Anions. Morphologie und Zusammensetzung der erhaltenen Kristalle (PSS 1 g L<sup>-1</sup>, FA 0.5 g L<sup>-1</sup> und  $[\text{CaCl}_2] = 10 \text{ mM}$  nach 2 Tagen Kristallisationsdauer) wurden mit Rasterkraftelektronenmikroskopie (REM) untersucht

[\*] S. S. Wang, Prof. Dr. A. W. Xu  
Division of Nanomaterials and Chemistry  
Hefei National Laboratory for Physical Sciences at Microscale  
University of Science and Technology of China  
Hefei 230026 (China)  
E-Mail: anwuxu@ustc.edu.cn

A. Picker, Prof. Dr. H. Cölfen  
Physikalische Chemie, Universität Konstanz  
Universitätsstraße 10  
Box 714, 78457 Konstanz (Deutschland)  
E-Mail: helmut.coelfen@uni-konstanz.de

[\*\*] Wir danken dem National Basic Research Program of China (2010CB934700, 2011CB933700) und der National Natural Science Foundation of China (21271165) für finanzielle Unterstützung.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201301184> zu finden.

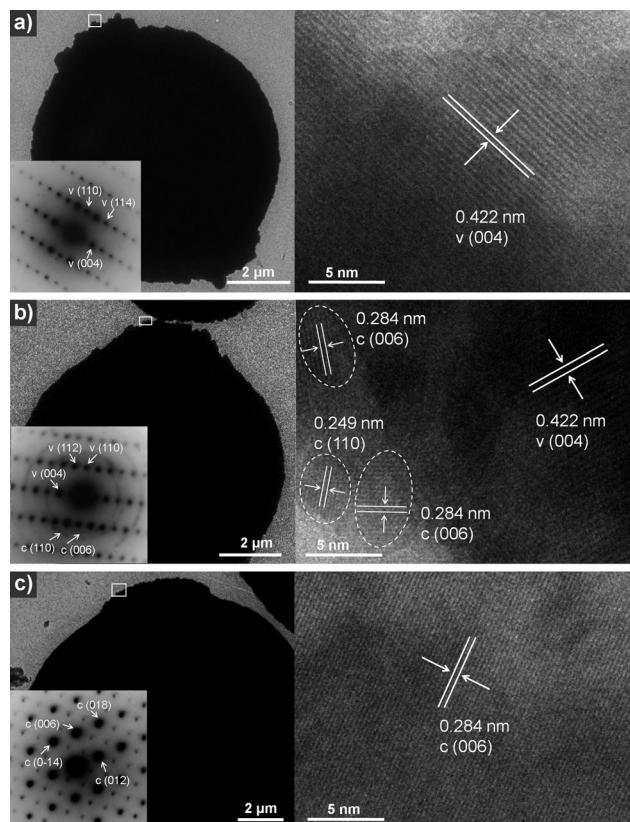


**Abbildung 1.** REM-Aufnahmen (a–c) und XRD-Spektrum (d) der heterostrukturierten sphärischen Calciumcarbonat-Kristalle mit Äquatorring nach einer Reaktionsdauer von 2 Tagen.  $[PSS] = 1 \text{ g L}^{-1}$ ,  $[FA] = 0.5 \text{ g L}^{-1}$ ,  $[CaCl_2] = 10 \text{ mM}$ . Die hochauflösende REM-Aufnahme (c) wurde von dem in (b) umrandeten Bereich gemacht. Weiße Pfeile deuten auf ausgeprägte hexagonale Vateritkristalle hin. Die Kennzeichnungen „c“ und „v“ in (d) stehen für die Beugungssignale von Calcit (JCPDS-Nr. 47-1743) bzw. Vaterit (JCPDS-Nr. 33-0268).

(Abbildung 1). Die Probe besteht fast ausschließlich aus gleichmäßig geformten sphärischen Kristallen mit Äquatorringen (Abbildung 1a). Typische Durchmesser der Kugeln liegen bei  $8\text{--}18 \mu\text{m}$ , und die Breite der Äquatorringe wurde zu  $0.6\text{--}2.5 \mu\text{m}$  bestimmt. Bei näherer Betrachtung eines einzelnen Ringes fällt auf, dass dieser aus orientiert angeordneten, ziegelsteinförmigen Kristallen mit ebenmäßigen Flächen und scharfen Kanten besteht (Abbildung 1b). Kürzlich veröffentlichte Arbeiten haben Nanopartikel als Baueinheiten von Biomineralien in Kombination mit einem „Stein-für-Stein-Bildungsmechanismus“ postuliert und bestätigt, dass mehrere Biomineralien eine regelmäßige kristallographisch orientierte Anordnung dieser Nanopartikel zeigen und somit als Mesokristalle bezeichnet werden können.<sup>[15]</sup> In Abbildung 1 sind die ziegelsteinförmigen Kristalle im Äquatorring senkrecht zu der Kugeloberfläche angeordnet, während die hexagonalen Plättchen des sphärischen Körpers tangential dazu wuchsen. Hochauflösende Rasterkraftelektronenmikroskopie (Abbildung 1c) zeigt, dass die Nanopartikeleinheiten auf der sphärischen Oberfläche eine für Vaterit charakteristische hexagonale Form aufweisen (Pfeile).<sup>[16]</sup> Dagegen besteht der Äquatorring aus rhomboedrischen Baueinheiten, die viel größer sind als die hexagonalen Partikeln auf der Oberfläche. In Anbetracht dieser unerwarteten Struktur mit individuell unterschiedlich ausgeprägten Segmenten kommen Fragen nach der Zusammensetzung sowie den kristallinen Phasen der Überstrukturen auf. Eine Röntgenbeugungsanalyse nach einer Reaktionsdauer von 2 Tagen (Abbildung 1d) deutet auf eine Mischung von zwei kristallinen Phasen innerhalb der Probe hin. Auch nach intensivem Screening der Probe mit REM wurden keine anderen Calcitquellen in Form der typischen Rhomboeder entdeckt. Basierend auf diesen Resultaten gehen wir davon aus, dass diese kinetisch stabilen Calci-

umcarbonat-Kristalle Heterostrukturen mit sphärischem Vateritkörper und Calcitäquatorringen darstellen (im Folgenden als Vaterit@Calcit bezeichnet).

HRTEM- und SAED-Messungen an 2 Tage alten Proben bestätigen die Vateritphase der sphärischen Kristallkörper (Abbildung S2). Weitere Fragen müssen jedoch hinsichtlich der kristallinen Phase der Äquatorringe gestellt werden. Mit zunehmender Wachstumsdauer wird eine Umwandlung der Ringe sowohl in der Mikrostruktur als auch in der Form der Polymorphs beobachtet. Abbildung 2a zeigt typische TEM-Aufnahmen der sphärischen Calciumcarbonat-Kristalle mit Äquatorring nach einer Kristallisationsdauer von 1 Tag. Die dazugehörigen HRTEM-Bilder des Rings zeigen Abstände der Gitterebenen von Vaterit (004) ( $d = 0.422 \text{ nm}$ ). Dies wurde durch eine SAED-Analyse bestätigt (kleiner Bildeinschub in Abbildung 2a). Eine offensichtliche Umwandlung von Vaterit in Calcit kann am Rand des Äquatorringes nach 1.5 Tagen beobachtet werden (Abbildung 2b). Diese Beobachtung von multiplen willkürlich orientierten Domänen mit wohldefinierten Gitterebenen zeigt die Entstehung eines neu geformten kristallinen Bereichs, der innerhalb der ursprünglichen Vaterit-Grundstruktur eingebaut wird. Die Gitterabstände wurden zu  $0.249 \text{ nm}$  und  $0.284 \text{ nm}$  bestimmt, welche



**Abbildung 2.** Zeitaufgelöste TEM-Analyse der Calciumcarbonat-Ringe nach a) 1 Tag, b) 1.5 Tagen und c) 2 Tagen. HRTEM-Aufnahmen der Äquatorringe (Bereiche gekennzeichnet durch weiße Kästchen) zeigen klar aufgelöste Kristallgitter. Die kleinen Bildeinschübe zeigen die dazugehörigen SAED-Beugungsmuster: a) Vaterit, b) koexistierendes Vaterit und Calcit, c) Calcit.  $[PSS] = 1 \text{ g L}^{-1}$ ,  $[FA] = 0.5 \text{ g L}^{-1}$ ,  $[CaCl_2] = 10 \text{ mM}$ . „c“ und „v“ kennzeichnen Signal von Calcit bzw. Vaterit.

gut mit den (110)- und (006)-Kristallgitterebenenabständen von Calcit übereinstimmen. Das dazugehörige SAED-Beugungsmuster (kleiner Bildeinschub in Abbildung 2b) kann sowohl mit hexagonalem Vaterit als auch mit zufällig verteiltem Calcit indiziert werden. Dies deutet auf die Koexistenz von Calcit- und Vateritnanokristalliten in einer und demselben Partikel hin. Die Calcitdomänen resultieren aus der partiellen Umwandlung von Vaterit und stellen gleichzeitig Keimbildungsorte für weitere Phasenumwandlungen hin zu der stabileren Calcitphase dar. Diese kristallinen Calcitdomänen werden einer weiteren Reorganisation unterzogen, bis sie ein perfekt strukturiertes Gitter bilden und letztlich nach einer Reaktionszeit von 2 Tagen zu dem höchst orientierten mesokristallinen Ring fusionieren, in dem nun keine Rückstände von Vaterit mehr detektiert werden können (Abbildung 2c). Die Gegenwart von periodischen Beugungspunkten sowie der gut aufgelösten Gitterebenen von Calcit (006) legt nahe, dass sich die ursprünglich zufällig nukleierten Partikel ausgerichtet und zu höchst orientierten Aggregaten zusammengelagert haben, welche nun in derselben Weise Elektronen beugen wie Einkristalle. Diese Resultate untermauern, dass der Calcitäquator aus der Vateritphase hervorgegangen sein muss. Während der Mechanismus für die Bildung einer neuen Calcitphase nicht aufgeklärt werden konnte ist jedoch klar, dass zufällig verstreute aktive Zentren am Rand des Äquatorringes als Ausgangspunkt für die Nukleation der *in situ* entstehenden Calcitphase dienen.

REM-Aufnahmen von zeitaufgelösten Experimenten (Abbildung 3) geben eine klare Vorstellung sowohl von der Veränderung der Kristallform als auch von der Modifikation der heterostrukturierten Vateritkugeln mit Calcitäquator. Ganz zu Beginn, wahrscheinlich bereits schon wenige Stunden nachdem die Reaktion gestartet wurde, bilden sich unregelmäßig geformte amorphe Calciumcarbonat(ACC)-Nanopartikel. Abbildung 3a zeigt die dazugehörige REM- und SAED-Analyse nach einer Reaktionsdauer von 5 h. Die Bildung und darauffolgende Umwandlung von amorphen Vorstufen wurde schon oft als erster Schritt in nichtklassi-

schen Kristallisationsprozessen identifiziert.<sup>[17]</sup> Diese ACC-Nanopartikel kristallisieren und aggregieren nach einer Reaktionsdauer von 16 h letztlich zu Vateritscheiben (Abbildung 3b). Jede dieser Scheiben kann hierbei als Agglomerat von Nanopartikeln angesehen werden, welche dieselbe dreidimensionale Orientierung teilen. Dies ist in guter Übereinstimmung mit bereits publizierten Studien, die über die Anordnung von Vateritnanopartikeln durch orientierte Anlagerung in Gasdiffusionsexperimenten mit Calciumcarbonat berichteten.<sup>[18]</sup> Durch weitere Anlagerung von Nanopartikeln, bevorzugt auf der oberen und unteren Oberfläche der intermediären Vateritscheiben, wachsen die  $\text{CaCO}_3$ -Kristalle immer weiter entlang der kristallographischen *c*-Achse, um schließlich diskoidale Partikel zu bilden, während sich der Äquatorring simultan zu entwickeln beginnt (Abbildung 3c). 2 Tage nach Reaktionsbeginn findet man schließlich die sphärischen Calciumcarbonat-Kristalle mit Äquatorring aus ziegelsteinförmigen Partikeln vor (Abbildung 3d). Der in zeitaufgelösten Experimenten offenbare Wachstumsmechanismus zeigt, dass sich die heterostrukturierten Calciumcarbonat-Kügelchen aus intermediär gebildeten Vateritscheiben entwickeln, wobei die Ränder dieser Plättchen in den später wohldefinierten Calcitriring umgewandelt werden. Zusätzliche REM-Aufnahmen von gebrochenen  $\text{CaCO}_3$ -Kügelchen bestätigen, dass es sich bei dem Calcitäquator wirklich um einen Ring und nicht um eine durchgehende Scheibe handelt (Abbildung S3, S5b).

Um den vorgeschlagenen Wachstumsmechanismus zu stützen, wurden weitergehende Experimente und Analysen durchgeführt. Während die meisten Calciumcarbonat-Kügelchen nur einen einzigen Äquatorring aufzeigen, können gelegentlich auch zwei senkrecht zueinander verlaufende, gekreuzte Ringe beobachtet werden. Zeitaufgelöste REM-Aufnahmen von der Bildung solch außergewöhnlicher  $\text{CaCO}_3$ -Kristalle in Kristallisationsexperimenten sind in Abbildung S4 gezeigt. Nach einer Reaktionsdauer von 16 h sind in diesem Szenario zwei sich kreuzende Scheiben erkennbar (Abbildung S4a). Nach 1 Tag werden beide Plättchen immer dicker (Abbildung S4b), sodass schließlich nach 2 Tagen die außergewöhnlichen  $\text{CaCO}_3$ -Kugeln mit zwei sich senkrecht kreuzenden Äquatorringen entstehen (Abbildung S4c). Dieser Bildungsprozess stützt weiter den vorgeschlagenen Umwandlungsmechanismus: Sphärische Vateritüberstrukturen bilden sich aus intermediären Vateritscheiben, während am Rande dieser Plättchen eine Umwandlung in Calcitringle aus ziegelsteinförmigen Partikeln erfolgt.

Bei fortlaufender Kristallisationsdauer über 2 Tage hinaus wandelt sich metastabiles Vaterit schließlich in Calcit um (Ostwaldsche Stufenregel, Abbildung S5). Die anfängliche Umwandlung läuft hierbei wahrscheinlich in den Äquatorringen auf Kosten von Vateritpartikeln ab. Dieser Auflösungsprozess ist langsamer als die in der Literatur berichtete Umwandlung von Vaterit zu Calcit, welche nach nur 7 h beobachtet wurde.<sup>[19]</sup> In unserem Fall löst sich der sphärische Körper bereits schrittweise auf, während der aus Calcit bestehende ziegelsteinmauerförmige Äquatorring noch intakt bleibt (Abbildung S5b). Mit fortlaufender Reaktionsdauer wachsen die Calcitkristalle in den Ringen auf Kosten der Vateritkugeln. Dies kann deutlich an den zurückgebliebenen

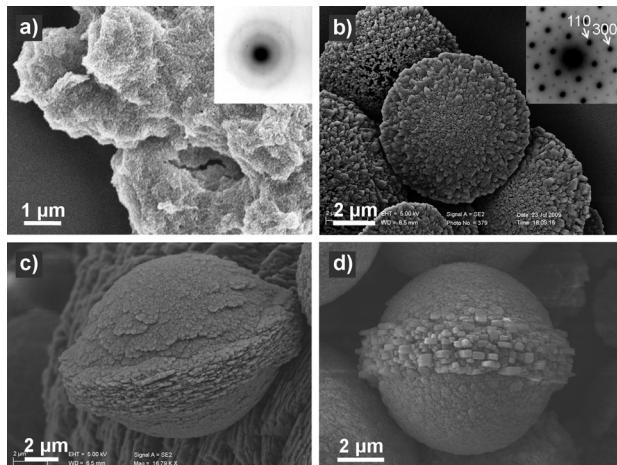
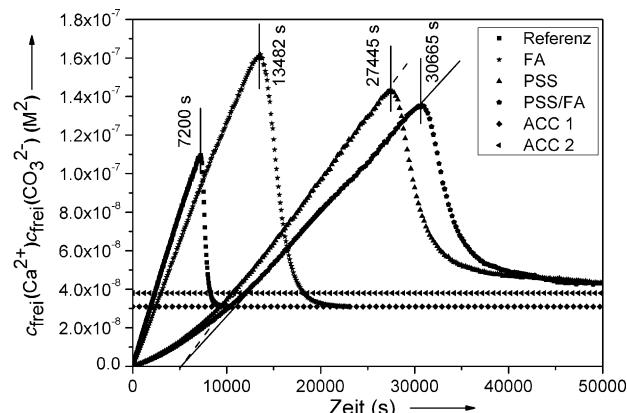


Abbildung 3. REM Aufnahmen von zeitaufgelösten Kristallisationsexperimenten: a) 5 h, b) 16 h, c) 1 Tag und d) 2 Tage.  $[\text{PSS}] = 1 \text{ g L}^{-1}$ ,  $[\text{FA}] = 0.5 \text{ g L}^{-1}$ ,  $[\text{CaCl}_2] = 10 \text{ mM}$ . Kleine Bildeinschübe in (a) und (b) zeigen die zugehörigen SAED-Beugungsmuster: a) amorph, b) Vaterit.

Vertiefungen auf der Oberfläche des entstandenen rhomboedrischen Calcits erkannt werden (Pfeile in Abbildung S5c). Teile der Calcitäquatoren bleiben hierbei mit der Oberfläche der entstandenen Rhomboeder verbunden (Pfeile in Abbildung S5d). Dieses polymorphe Phasenumwandlungsverhalten ist den bereits früher berichteten hohlen, aus Calcit-rhomboedern bestehenden Kugeln ähnlich, welche auf Kosten von sphärischem Vaterit in Gegenwart von Polyethylenoxid-block-Polymethacrylsäure entstanden.<sup>[20]</sup> In unserem Fall sind nach einer Reaktionsdauer von 7 Tagen nur noch große Calcitkristalle erkennbar (Abbildung S5e,f).

Sowohl die Nukleation als auch das darauffolgende Kristallwachstum werden unweigerlich zu dem Einschluss von Additivmolekülen in die entstehenden dreidimensionalen Kristalle und somit zur Bildung von organisch-anorganischen Hybridstrukturen führen. Mit einer thermogravimetrischen Analyse konnte der in den Kristallen eingeschlossene Massenanteil von PSS und FA zu 2.8 bzw. 2.4 Gew.-% bestimmt werden (Abbildung S6). Rein optisch unterscheidet sich das leuchtend gelbe FA (Abbildung S7a) von PSS und  $\text{CaCO}_3$ , die weiße Pulver darstellen. Frisch synthetisierte, heterostrukturierte  $\text{CaCO}_3$ -Kugelchen sind hingegen blassgelb (Abbildung S7b), was auf die Gegenwart von reichlich FA in den Kristallen hinweist. Zusätzlich zu dem Einschluss von FA-Molekülen in Vaterit kann auch die Adsorption von FA auf Calcit beobachtet werden (Abbildung S8).

Die Additive spielen wahrscheinlich eine entscheidende Rolle bezüglich der Inhibierung und Abstimmung der Kristallisation der anorganischen Komponente, was im Endeffekt zu der Bildung von verschiedenen Kristallpolymorphen führt. Die vielfältigen Effekte der Additive können aufgrund ihrer möglichen Wechselwirkungen mit  $\text{CaCO}_3$ -Pränukleationsstufen in Titrationsexperimenten quantifiziert werden (siehe den Experimentalteil in den Hintergrundinformationen).<sup>[21]</sup> Typische Kurven (Abbildung 4) beschreiben die Entwicklung des freien Ionenprodukts mit der Zeit und der zugegebenen Menge an Calciumionen. Solche Titrationen wurden mit einer Referenzprobe (nur Carbonatpuffer) und drei verschiedenen Additivfällen (PSS, FA, PSS/FA) durchgeführt. Verglichen mit der Referenz ist die Steigung der Titrationskurve in Gegenwart von FA geringer, was auf eine erhöhte Calciumbindung an Carbonationen und somit auf eine Stabilisierung von Pränukleationsclustern in der Pränukleationsphase von  $\text{CaCO}_3$  hindeutet. Das mit dem Dosieren von Calciumionen simultan einsetzende Signal der calciumselektiven Elektrode lässt darauf schließen, dass es keine Bindeaffinität zwischen Calciumionen und FA-Molekülen gibt. Dagegen kann man eine solche Affinität in Gegenwart von PSS und PSS/FA deutlich erkennen. Die dazugehörigen Calciumadsorptionsvermögen von PSS und FA wurden zusätzlich in unabhängigen Titrationsexperimenten bestimmt. Während FA kein messbares Adsorptionsvermögen für Calciumionen aufzeigt, werden pro PSS-Monomer bei pH 9 ca. 0.21  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen gebunden. Auch im Fall der PSS/FA-Mischung kann der gebundene Calciumanteil komplett dem Bindevermögen von PSS zugeschrieben werden, da sowohl die durchgezogene (PSS/FA) als auch die gestrichelte Linie (PSS) in Abbildung 4 den gleichen Schnittpunkt auf der x-Achse aufweisen. Eine weitere Besonderheit der Titrationskurven in Gegenwart von



**Abbildung 4.** Zeitliche Entwicklung des freien Ionenprodukts gemessen in 10 mM Carbonatpuffer ohne (Referenz) und mit Additiven (nur FA ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ), nur PSS ( $2 \text{ g L}^{-1}$ ) und PSS/FA-Mischung ( $2 \text{ g L}^{-1}/1 \text{ g L}^{-1}$ )) bei konstant gehaltenem pH 9. Zwei verschiedene Löslichkeitsprodukte von unterschiedlichen ACC-Phasen (ca.  $3.1 \times 10^{-8} \text{ M}^2$  (ACC 1) und ca.  $3.8 \times 10^{-8} \text{ M}^2$  (ACC 2)) gehören zu den amorphen Phasen, die calcitische bzw. vateritische Nahordnung aufweisen.

Additiven ist der im Vergleich zur Referenz hinausgezogene Nukleationspunkt (Kurvenmaximum). Diese Inhibition zeigt, dass die  $\text{CaCO}_3$ -Pränukleationscluster durch Zugabe von FA oder PSS gegen weitere Aggregation, welche letztlich zur Nukleation führen würde, stabilisiert werden. Nach der Nukleation fällt das freie Ionenprodukt auf den Wert des Löslichkeitsprodukts der ausgefallenen Phase mit der höchsten Löslichkeit. Im Fall von PSS und PSS/FA entspricht das Löslichkeitsprodukt dem von vateritischem ACC, während die Werte im Referenz- und FA-Fall auf den von calcitischem ACC fallen.<sup>[22]</sup>

Basierend auf diesen Experimenten kommen wir zu der Schlussfolgerung, dass PSS Vaterit stabilisieren kann (Abbildung S9), während FA allein dazu nicht ausreicht (Abbildung S8). Weitere Informationen bezüglich der kinetisch stabilisierten, zweiphasigen Heterostrukturen wurden aus fluoreszenzmikroskopischen Experimenten erhalten. Aufgrund der unterschiedlichen Fluoreszenzeigenschaften von FA und PSS (FA fluoresziert, PSS nicht) können die Photolumineszenzeigenschaften der  $\text{CaCO}_3$ -Kristalle Informationen über die Verteilung von eingeschlossenem FA liefern.<sup>[23]</sup> In Abbildung S10 ist deutlich zu erkennen, dass der gesamte  $\text{CaCO}_3$ -Kristall unter UV Bestrahlung (Wellenlänge: 370 nm) Licht abstrahlt. Hierbei ist die Leuchttintensität des Äquatorrings stärker als die des sphärischen Körpers, was darauf hindeutet, dass sich dort mehr FA-Moleküle befinden als in dem Vateritkugelchen. Diese Beobachtung kann mit den pH-Bedingungen während des Kristallisationsprozesses erklärt werden. Während FA bei einem anfänglichen pH-Wert von 4 unlöslich ist, löst sich PSS gut, sodass die Sulfonatgruppen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen adsorbieren können. Die daraufhin gebildeten primären Calciumcarbonat-Cluster und die im weiteren Verlauf daraus entstehenden Vateritplättchen enthalten entsprechend viel PSS. Des Weiteren wurde bereits gezeigt, dass ein von innen nach außen abnehmender Konzentrationsgradient in Bezug auf eingeschlossenes PSS in jedem Plättchen

besteht.<sup>[24]</sup> Mit fortlaufender Reaktion steigt der pH-Wert auf 9, sodass FA deprotoniert und somit wasserlöslich wird. Die elektrostatische Abstoßung zwischen negativ geladenen PSS- und FA-Molekülen führt nun zu einem verringerten Einbau von PSS in die Ringe zugunsten einer Anreicherung von FA. Wie bereits erwähnt, haben Kontrollexperimente gezeigt, dass PSS im Gegensatz zu FA Vaterit temporär stabilisieren kann (Abbildungen S8 und S9). Dies ist auch der Grund, warum die Ringregionen mit hohem FA- und niedrigem PSS-Anteil Ausgangspunkte für die Umwandlung von Vaterit in Calcit darstellen. Ein hoher FA-Anteil allein reicht hierbei nicht zur Inhibierung der Calcitbildung (Abbildung S8). Andererseits kann die Vateritphase im sphärischen Körper durchaus von PSS temporär stabilisiert werden (Abbildung S9). Die unterschiedliche Verteilung der beiden Additive, welche die Bildung verschiedener kristalliner Phasen zur Folge hat, wird daher als Grundlage für die Entstehung der heterostrukturierten Vaterit@Calcit-Kristalle betrachtet. Um diese Annahme weiter zu stützen, wurden Kontrollexperimente durchgeführt, in denen FA zu bereits gestarteten Reaktionen nachträglich zugegeben wurde (Abbildung S11). Nach 1 Tag sind in Gegenwart von PSS-Vateritkugelchen, welche denen in Abbildung 3c sehr ähnlich sind, deutlich erkennbar (Abbildung S11 a). Dies unterstreicht die dominante Rolle von PSS bei der Bildung von sphärischem Vaterit in der Frühphase. 1 Tag nach dem Start der Reaktion wurde FA in die oben erwähnte Lösung gegeben. Mit andauernder Kristallisationsdauer für einen weiteren Tag kann beobachtet werden, wie neu gebildetes Calcit die ursprünglich vorhandenen Vateritkugelchen einschließt (Abbildung S11 b,d). Hierbei ist es offensichtlich, dass die erhaltenen Strukturen aus mit Calcit umgebenen Vateritkugeln bestehen (Pfeile in Abbildung S11 d). Dies bestätigt, dass FA das Wachstum von Calcitschichten in späteren Phasen der Kristallisation induziert. Durch die Zugabe von FA zu schon vorhandenem sphärischem Vaterit wurde FA homogen auf der gesamten Kugeloberfläche verteilt, was letztlich zur Bildung von Calcitschalen anstelle der Calcitringle führt. Zusätzlich zeigt Abbildung S11 c, dass ähnliche Vateritkugeln mit Äquator nach 2 Tagen in Gegenwart von PSS allein entstehen. Die Ringe bestehen jedoch aus Vateritplättchen anstatt aus Calcitrhomboedern, was an der typischen Morphologie erkennbar ist. Diese Ergebnisse aus den Kontrollexperimenten belegen, dass der Einschluss von FA in die Äquatorringe den Schlüsselfaktor für deren calcitische Natur darstellt.

Insgesamt konnten wir zum ersten Mal zeigen, dass komplexe Vaterit@Calcit-Heterostrukturen durch den synergetischen Effekt von FA und PSS gebildet werden. Dies ist auf die individuellen Eigenschaften der Additive zurückzuführen, welche verschiedene Calciumcarbonat-Phasen während unterschiedlicher Reaktionsstufen stabilisieren. Dadurch war es möglich, zwei  $\text{CaCO}_3$ -Polymorphe in ein und demselben Partikel während mehrerer Tage zu stabilisieren. Dies ist deswegen besonders bemerkenswert, weil frühere Studien von einer Umwandlung von Vaterit in Calcit in derselben Reaktionsstufe berichteten. Das hier beschriebene System ist ein typisches Modellsystem für die grundlegende Untersuchung der Kombination aus Kinetik und Thermodynamik in Kristallisationsprozessen. Die durch nichtklassische

partikelvermittelte Prozesse gebildeten  $\text{CaCO}_3$ -Kristalle liefern weitere wichtige Hinweise für die Bedeutung von mesoskopischen Umwandlungen in Kristallisationsprozessen mit koexistierenden Polymorphen. Die kontrollierte Verteilung mehrerer wachstumsbeeinflussender Additive mit verschiedenen Funktionen in Kristallen wird neue Möglichkeiten für das rationale Design kristalliner Morphologien, Polymorphe und hierarchischer Überstrukturen eröffnen.

Eingegangen am 9. Februar 2013

Online veröffentlicht am 29. April 2013

**Stichwörter:** Bioinspirierte Mineralisation · Calciumcarbonat · Heterostrukturen · Koexistierende Polymorphe · Kristallisationsprozesse

- [1] a) H. A. Lowenstam, S. Weiner, *On Biomineralization*, Oxford University Press, New York, **1989**; b) E. Bäuerlein, *Biomineralization*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**; c) S. Mann, *Biomineralization, Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, Oxford University Press, Oxford, **2001**; d) S. Mann, J. Webb, R. J. P. Williams, *Biomineralization*, VCH, Weinheim, **1989**; e) M. Antonietti, G. A. Ozin, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 28; f) S. Weiner, I. Sagi, L. Addadi, *Science* **2005**, *309*, 1027.
- [2] a) H. Cölfen, S. Mann, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2452; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2350; b) H. Cölfen, M. Antonietti, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 5714; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5576; c) A. W. Xu, M. Antonietti, S. H. Yu, H. Cölfen, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 1333.
- [3] A. W. Xu, Y. R. Ma, H. Cölfen, *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 415.
- [4] a) F. C. Meldrum, H. Cölfen, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 4332; b) Y. Peng, A. W. Xu, B. Deng, M. Antonietti, H. Cölfen, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 2988.
- [5] a) H. Cölfen, *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 219; b) H. T. Shi, L. M. Qi, J. M. Ma, H. M. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3450; c) T. X. Wang, A. W. Xu, H. Cölfen, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4561; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4451; d) H. Cölfen, M. Antonietti, *Langmuir* **1998**, *14*, 582.
- [6] a) E. G. Bellomo, T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2276; b) Y. Yao, W. Y. Dong, S. M. Zhu, X. H. Yu, D. Y. Yan, *Langmuir* **2009**, *25*, 13238.
- [7] J. D. Hartgerink, E. Beniash, S. I. Stupp, *Science* **2001**, *294*, 1684.
- [8] a) C. A. Orme, A. Noy, A. Wierzbicki, M. T. McBride, M. Grantham, H. H. Teng, P. M. Dove, J. J. DeYoreo, *Nature* **2001**, *411*, 775; b) L. A. Estroff, C. D. Incarvito, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2; c) A. W. Xu, Q. Yu, W. F. Dong, M. Antonietti, H. Cölfen, *Adv. Mater.* **2005**, *17*, 2217.
- [9] a) J. Aizenberg, A. J. Black, G. M. Whitesides, *Nature* **1999**, *398*, 495; b) B. R. Heywood, S. Mann, *Adv. Mater.* **1994**, *6*, 9; c) Y.-J. Han, L. M. Wysocki, M. S. Thanawala, T. Siegrist, J. Aizenberg, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2438; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2386; d) H. Li, L. A. Estroff, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5480.
- [10] a) M. Li, H. Cölfen, S. Mann, *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 2269; b) L. M. Qi, J. Li, J. M. Ma, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 300.
- [11] A. M. Oliveira, M. Farina, *Naturwissenschaften* **1996**, *83*, 133.
- [12] J. Ihli, P. Bots, A. Kulak, L. G. Benning, F. C. Meldrum, *Adv. Funct. Mater.* **2013**, DOI: 10.1002/adfm.201201742.
- [13] a) T. X. Wang, H. Cölfen, M. Antonietti, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3246; b) A. H. Cai, X. R. Xu, H. Pan, J. H. Tao, R. Liu, R. K. Tang, K. Cho, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 11324; c) Z. Liu, X. D. Wen, X. L. Wu, Y. J. Gao, H. T. Chen, J. Zhu, P. K. Chu, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9405; d) A. S. Schenk, I. Zlotnikov, B. Pokroy, N. Gierlinger, A. Masic, P. Zaslansky, A. N. Fitch, O.

- Paris, T. H. Metzger, H. Cölfen, P. Fratzl, B. Aichmayer, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, 22, 4668.
- [14] a) M. J. Boot, R. P. M. Steegers-Theunissen, R. E. Poelmann, L. V. Iperen, J. Lindemans, A. C. G.-D. Groot, *Dev. Dyn.* **2003**, 227, 301; b) M. Fenech, *Mutat. Res.* **2001**, 475, 57.
- [15] a) Y. Oaki, A. Kotachi, T. Miura, H. Imai, *Adv. Funct. Mater.* **2006**, 16, 1633; b) J. Seto, Y. R. Ma, S. A. Davis, F. Meldrum, A. Gourrier, Y.-Y. Kim, U. Schildknecht, M. Sztucki, M. Burghammer, S. Maltsev, C. Jäger, H. Cölfen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, 109, 3699.
- [16] A. W. Xu, M. Antonietti, H. Cölfen, Y. P. Fang, *Adv. Funct. Mater.* **2006**, 16, 903.
- [17] H. Cölfen, *Mesocrystals and Nonclassical Crystallization*, Wiley, Chichester **2008**.
- [18] N. Gehrke, H. Cölfen, N. Pinna, M. Antonietti, N. Nassif, *Cryst. Growth Des.* **2005**, 5, 1317.
- [19] A. Richter, D. Petzold, H. Hofmann, B. Ullrich, *Chem. Tech.* **1996**, 48, 271.
- [20] S. H. Yu, H. Cölfen, M. Antonietti, *J. Phys. Chem. B* **2003**, 107, 7396.
- [21] a) D. Gebauer, A. Völkel, H. Cölfen, *Science* **2008**, 322, 1819; b) D. Gebauer, H. Cölfen, A. Verch, M. Antonietti, *Adv. Mater.* **2009**, 21, 435.
- [22] D. Gebauer, P. N. Gunawidjaja, J. Y. P. Ko, Z. Bacsik, B. Aziz, L. J. Liu, Y. F. Hu, L. Bergström, C.-W. Tai, T.-K. Sham, M. Edén, N. Hedin, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 9073; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 8889.
- [23] N. Gartmann, D. Brühwiler, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 6472; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 6354.
- [24] Y. X. Gao, S. H. Yu, H. P. Cong, J. Jiang, A. W. Xu, W. F. Dong, H. Cölfen, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 6432.