

Molekular gesteuerte Aggregation von Nano-Kompositkristallen

Dissertation

zur Erlangung der Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
im Promotionsfach Chemie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

JOHANNES GUTENBERG
UNIVERSITÄT MAINZ



Vorgelegt von
Moritz Susewind
geb. in Oberwesel

Mainz, 2015

Dekan

Erster Berichterstatter:

Zweiter Berichterstatter

Tag der mündlichen Prüfung

Zusammenfassung

Die folgende Arbeit beschäftigt sich mit der Kristallisationskontrolle von Biomineralen am Beispiel von Calciumcarbonat zum einen durch funktionalisierte Nanopartikel und zum anderen durch Kompartimente in Kombination mit organischen (Bio-) Makromolekülen. Ziel dieser Arbeit war es, die in der Natur zugrunde gelegten Mechanismen der molekularen Selbstanordnung bei der Bildung von Biomineralen durch Modellsbstanzten zu imitieren und somit näher zu verstehen. Zum Zwecke der Beeinflussung des Kristallwachstums und der anschließenden Analyse der Kompositkristalle wurden verschiedene Janus-artige Nanopartikelsysteme synthetisiert und charakterisiert. Diese zeichnen sich aufgrund ihrer Flexibilität bei der Funktionalisierung durch ein unterschiedliches und variables Verhalten in Lösung aus und dienen somit dem Zweck, verschiedene Arten der Wechselwirkungen zwischen Additiv und Mineral zu imitieren. Gleichzeitig dienen diese Additive als Erweiterung zu den bisher verwendeten rein organischen Molekülen aufgrund ihrer optoelektronischen Eigenschaften als ideale Analysewerkzeuge. Besonders bei anisotroper Funktionalisierung der Nanopartikel spielt das aus der Natur bekannte Prinzip der molekularen Selbstorganisation in Lösung eine entscheidende Rolle, welches zur Imitation von organischen Mizellen und Monolagen führt, die die Kristallbildung beeinflussen. Des Weiteren wurden Membrane mit definierter Porengröße mittels der Doppeldiffusionsmethode verwendet, in denen in Anlehnung an Zellkompartimente Biominerale mit ungewöhnlicher Morphologie unter Zuhilfenahme von (Bio-)Makromolekülen erhalten wurden. In Abhängigkeit der zugesetzten Additive lassen sich somit die Reaktionsbedingungen in Mikroreaktionsräumen und die Einflüsse verschiedener Parameter auf die Morphologie und Polymorphie des Biominerals untersuchen. Letztere Versuche wurden auch an einem weiteren pflanzenphysiologisch wichtigen Biomineral, dem Calciumoxalat, durchgeführt.

Abstract

The following thesis deals with the influences of selectively functionalized nanoparticle systems on the nucleation and growth of biominerals, i.e. calcium carbonate, on the one hand, and with crystallization in confined space influenced by organic (bio-) macromolecules on the other. The aim was to mimic nature's principle of molecular self-assembly during precipitation of biominerals through the use of model substances, thereby learning something about molecular interactions. Therefore, different Janus-like nanoparticle systems were synthesized

and characterized in order to influence and study the mechanisms affecting the precipitation of biominerals. Due to their flexibility in addressability, the Janus-nanoparticles serve as appropriate substances to study different chemical behavior of nanoparticle/nanoparticle- and nanoparticle/biomineral- interactions in solution. As an extension of common organic additives, the nanoparticle systems used herein with their inherent optoelectronic properties are ideal tools for subsequent analysis in the precipitated minerals. Especially, anisotropically functionalized Janus-nanoparticles imitate the influences of micelles and self-assembled monolayers (SAMs) on crystallization in a quite comparable way to organic analogues. The second system which is discussed in this work makes use of membranes with defined pores via the double-diffusion method, which mimics the principle of confined space known from cell compartments in animals and plants. This system generates crystals with unusual morphologies with the aid of (bio-) macromolecules. The reaction conditions for crystallization in confined space were elucidated by using different additives and their effects on morphology and polymorphism of the generated biominerals. These were also tested with another physiologically important biomineral, i.e. calcium oxalate.

Inhaltsverzeichnis

Biomimetik – Design von Biomineralen mittels templatgestützter Synthese	1
1.1 Klassische Nukleationstheorie	2
1.2 Vorbild Natur – komplexe Kristallisationssysteme	11
1.3 Nichtklassische Kristallisation	16
1.4 Biomimetische Kristallisationssysteme	19
1.4.1 Calciumcarbonat-Kompositkristalle	19
1.4.2 Calciumoxalat-Kompositkristalle	22
1.5 Experimentalteil	25
1.5.1 Verwendete Materialien	25
1.5.2 Allgemeine Synthesevorschrift	26
1.6 Ergebnisse und Diskussion	28
1.6.1 Biomineralkomposit-Stäbchen	28
1.6.2 Silicatein- α induzierte Nanostrukturierung	37
Janus-Partikel zur Kristallisationskontrolle	43
2.1 Einleitung	43
2.2 Au@ZnO@SiO ₂ – optoelektronische Eigenschaften	44
2.3 Experimentalteil	51
2.3.1 Synthese der Au@ZnO@SiO ₂ -Nanostäbchen	51
2.3.2 Synthesestrategie der Au@Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ -Nanopartikel	52
2.3.3 Synthese der 4 nm Au-Nanopartikel	53
2.3.4 Synthese der sphäroiden Au@Fe ₃ O ₄ -Heterodimere	55
2.3.5 Synthese der verzweigten Au@Fe _x O _y -Heterodimere	55
2.3.6 Silica-Funktionalisierung der Eisenoxid-Domänen	55
2.3.7 Funktionalisierung der Au-Domäne	56
2.3.8 Funktionalisierung der Silica-Hülle mit Cys-Silicatein- α	56
2.3.9 Funktionalisierung der Fe ₃ O ₄ -Domäne mit AA-co-AMPS-Polymer	56
2.4 Ergebnisse und Diskussion	57
2.4.1 Eigenschaften der Au@ZnO@SiO ₂ -Nanostäbchen	57
2.4.2 Funktionalisierung der Au@Fe _x O _y Janus-Partikel	71
Nanopartikel als Kristallisationsmodifizierer	80
3.1 Molekulare Selbstanordnung in der Kristallisation	80
3.2 Experimentalteil	87
3.2.1 Synthese der 4 nm 11-MUA-Au Kolloide	87

3.2.2 Synthese der 11-MUA-Au@ZnO@SiO ₂ -Nanostäbchen	87
3.2.3 Nanopartikel-kontrollierte Kristallisation von CaCO ₃	88
3.3 Ergebnisse und Diskussion	88
3.3.1 Au@ZnO@SiO ₂ -Nanostäbchen als Wachstumsmodifizierer	88
3.3.2 Au@Fe _x O _y @SiO ₂ -Nanosphäroide als Wachstumsmodifizierer	96
3.3.3 Isotrope Au-Kolloide als Wachstumsmodifizierer	103
3.3.4 Zusammenfassung	109
Anhang	111
A1 Verwendete Geräte	111
A2 Artikel in Fachzeitschriften	112
A3 Literaturverzeichnis	113
A4 Abbildungsverzeichnis	131
Curriculum Vitae	135

1

Biomimetik – Design von Biomineralen mittels templatgestützter Synthese

Neben einer Vielzahl auftauchender Biominerale in der Natur, wie z.B. Calciumphosphat in Knochen, deren hierarchischer Aufbau unter anderem auf kleinen Plättchen von Hydroxylapatit beruht und somit exzellente mechanische Eigenschaften besitzt (1) (2), Biosilica in Form von Kieselalgen (3) (4), Calciumoxalat in Pflanzen (5) (6) und Harnsteinen (7), Magnetit (Fe_3O_4)-Einkristallen in magnetotaktischen Bakterien (8) (9) ist Calciumcarbonat *das* Biomineral schlechthin. Bereits seit den späten 1980er Jahren existiert eine umfassende Literatur zu diesem Thema (10) (11), welche seitdem stetig gewachsen ist. In der Natur findet man Calciumcarbonat hauptsächlich in marinen Organismen, in der Form von Calcit und Aragonit in Perlmutter (12) (13), Stacheln von Seeigeln, die aus Calcit-Einkristallen bestehen (14), Kalkalgen wie *Emiliana huxleyi* (15), um nur ein paar zu nennen. Im Folgenden werden nach einer kurzen Einführung in die klassische Nukleationstheorie (CNT) die zugrunde liegenden Mechanismen, die für diese komplexen Morphologien und mechanischen Eigenschaften verantwortlich sind, an wenigen Beispielen des Biominerals Calciumcarbonat und Biosilica erörtert, bevor im übernächsten Abschnitt biomimetische Kristallwachstumsexperimente vorgestellt werden.

1.1 Klassische Nukleationstheorie

Die thermodynamische Triebkraft hinter der Ausbildung eines Keims und dessen Wachstum ist die relative Übersättigung S der gelösten Spezies mit der Konzentration c und dem Löslichkeitsprodukt k_{LP} :

$$S = \frac{c}{k_{LP}} \quad (1.1)$$

wobei c z.B. bei Salzen das Aktivitätsprodukt ist. Die freie Enthalpie der Kristallisationsreaktion hängt dabei wie folgt von der Übersättigung ab

$$\Delta\mu = \mu_2 - \mu_1 = -kT \ln S \quad (1.2)$$

mit den chemischen Potentialen μ_1 und μ_2 vor bzw. nach der Phasenseparation sind, k der Boltzmann-Konstante und T der thermodynamischen Temperatur. Voraussetzung für eine Phasenseparation und somit die Ausbildung neuer Grenzflächen ist, dass das chemische Potential vor der Phasenseparation höher als das nach der Phasenseparation ist. Somit gilt für die freie Reaktionsenthalpie $\Delta\mu < 0$. Keimbildung und Wachstum in Abhängigkeit von der Übersättigung können beispielhaft an dem LaMer-Modell von 1950 für Schwefel in Ethanol veranschaulicht werden, welches ein sehr allgemeines Konzept darstellt und sehr häufig bei der homogenen Keimbildung in Nanopartikelsynthesen Berücksichtigung findet (Abb.1). (16)

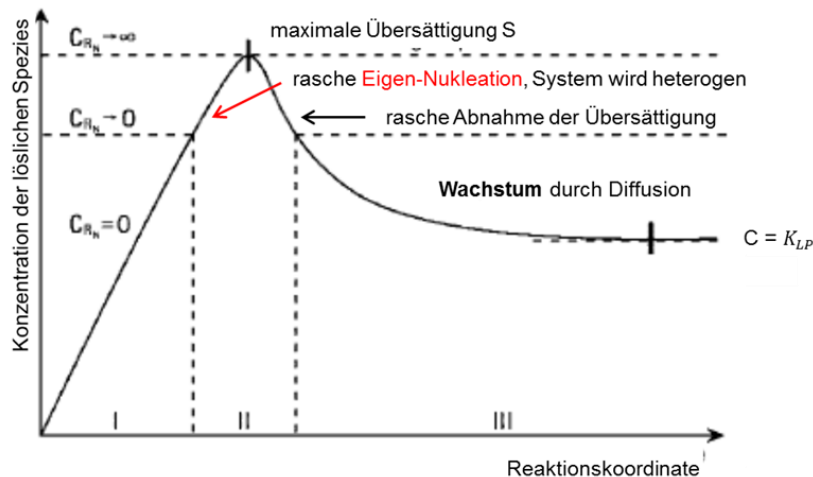


Abb. 1 Zeitliche Entwicklung der gelösten Spezies bei konstanter Freisetzung von molekularem Schwefel vor und nach der Nukleations- und Wachstumsphase nach dem LaMer-Modell (1950), mit Veränderungen übernommen nach (16)

Dabei sei angemerkt, dass dieses Modell auf alle Kristallisationsprozesse anwendbar ist. Die schematische Darstellung beschreibt die zeitliche Abhängigkeit der Konzentration einer löslichen Spezies vor und nach der Nukleations- und Wachstumsphase. Dabei wird die lösliche Spezies während der gesamten Reaktion mit konstanter Rate R_A erzeugt, wodurch im Bereich I die Konzentration linear zunimmt. In diesem Bereich wird die Sättigungskonzentration $S = 1$ durchlaufen, dennoch zerfallen hier die gebildeten Keime sofort wieder. Die Wachstumsrate R_G ist auch noch oberhalb des Löslichkeitsproduktes für $S > 1$ bis zum Erreichen einer kritischen Übersättigung (Trennung von Bereich I und II) gleich Null. Dieses Verhalten ist auf eine kinetische Hemmung des Systems und die aufzuwendende Grenzflächenarbeit zurückzuführen. Die Nukleationsrate

$$R_N = A \exp\left(-\frac{\Delta G_{crit}}{k_B T}\right) \quad (1.3)$$

ist proportional zur Übersättigung S und hat die Form einer Arrhenius-Gleichung mit einem kinetischen Parameter A , der Boltzmann-Konstante k_B , der Temperatur T und der kritischen Keimbildungsarbeit ΔG_{crit} . Letztere ist diejenige Arbeit, die bis zum Erreichen der kritischen Keimgröße, ab der der Keim stabil ist und nicht mehr zerfällt, geleistet werden muss. Energetisch profitiert der Keim von der negativen Volumenenergie oder Gitterenergie ΔG_V , die mit r^3 skaliert und für größere Radien dominiert. Dagegen wirkt die thermodynamisch ungünstige stets positive Oberflächenbildungsarbeit ΔG_O , welche aus ungesättigten Oberflächenbindungen resultiert und mit r^2 skaliert, sodass dieser Term für kleinere Radien dominiert. Die Keimbildungsarbeit setzt sich dabei aus der Summe beider nach

$$\Delta G = \Delta G_O + \Delta G_V = 4\pi r^2 \gamma + \frac{4}{3}\pi r^3 \Delta G_V \quad (1.4)$$

zusammen, wobei r der Keimradius, γ die Oberflächenspannung ($[\gamma] = 1 \text{ J/m}$), und ΔG_V die Änderung der Kristallisationsenthalpie pro Volumeneinheit des Kristalls ist. Aufgrund der unterschiedlichen Vorzeichen und r -Skalierungen der beiden Terme in Gl. (1.4) durchläuft die Keimbildungsarbeit am kritischen Radius ein Maximum, nachdem die negative Volumenarbeit ein weiteres Anwachsen des Keims dominiert (Abb.2). Wie im Folgenden gezeigt werden soll, hängen sowohl die kritische Keimbildungsarbeit ΔG_{crit} in Gl. (1.3) als auch der der kritische Radius r_{crit} von der Übersättigung S ab. Dazu wird Gl. (1.4) nach r abgeleitet

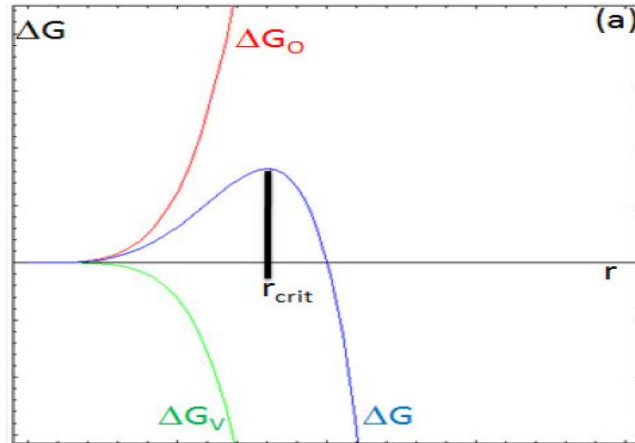


Abb. 2 Abhängigkeit der Keimbildungsarbeit ΔG und der beiden Komponenten, der Oberflächenbildungsenthalpie ΔG_O und der Volumenergie ΔG_V vom Keimradius r , übernommen aus (17)

und gleich Null gesetzt, wodurch man für den kritischen Radius

$$r_{crit} = -\frac{2\gamma}{\Delta G_v} \quad (1.5)$$

erhält. Durch Einsetzen von Gl. (1.5) in Gl. (1.4) erhält man für die kritische Keimbildungsarbeit

$$\Delta G_{crit} = \frac{16\pi}{3} \frac{\gamma^3}{\Delta G_v^2} \quad (1.6)$$

$$= \frac{4\pi}{3} \gamma r_{crit}^2 \quad (1.7)$$

Die Verwendung der Gibbs-Thomson-Gleichung (18)

$$\ln S = \frac{2\gamma V_m}{RT r} \quad (1.8)$$

welche die Übersättigung mit dem Keimradius verknüpft, wobei V_m das Molvolumen der Baueinheiten des Kristalls ist, liefert nach Einsetzen in Gl. (1.7) für

$$\Delta G_{crit} = \frac{16\pi}{3} \frac{\gamma^3 V_m^2}{(RT \ln S)^2} \quad (1.9)$$

und verknüpft somit die kritische Keimbildungsarbeit mit der Übersättigung. Sind die Grenzflächenspannung und das Volumen einer Baueinheit der Substanz bekannt, erhält man durch Einsetzen von Gl. (1.9) in Gl. (1.3) einen Ausdruck für die Nukleationsrate, die wie folgt nur noch von der Übersättigung abhängt

$$R_N = A \exp(-B/\ln^2 S) \quad (1.10)$$

wobei A und B jeweils der von S unabhängige kinetische bzw. thermodynamische Parameter ist. (19) (20) Einen guten Überblick zu Kristallisationsmechanismen in Lösung liefert auch der Artikel von Boistelle et al. (21) Das Wachstum eines Keims kann als dynamisches Gleichgewicht eines Flusses J_A von Gitterbausteinen aus Lösung zum Kristall und eines entgegengesetzten Flusses J_D vom Kristall in Lösung mit jeweils

$$J_A = 4\pi r^2 k_A^0 c_s \exp\left[-\alpha \frac{2\gamma V_m}{rRT}\right] \quad (1.11)$$

$$J_D = -4\pi r^2 k_D^0 \exp\left[(1 - \alpha) \frac{2\gamma V_m}{rRT}\right] \quad (1.12)$$

betrachtet werden, wobei für den Nettofluss J gilt

$$J = J_A + J_D \quad (1.13)$$

Hierbei sind k_A^0 und k_D^0 die Geschwindigkeitskonstanten der Addition bzw. der Dissoziation von Monomereinheiten eines unendlich ausgedehnten Kristalls, α der Transferkoeffizient, V_m das Molvolumen des Kristalls und r der Partikelradius. Die folgende Herleitung dieser Ausdrücke basiert auf einer Ausführung von Park et al. (22) Der Ionenfluss mit der Einheit einer Rate ($[J] = 1 \text{ kg/m}^2\text{s}$) (23) ist über das erste Ficksche Gesetz wie folgt definiert:

$$J(t) = 4\pi x^2 D \frac{dc}{dx} \quad (1.14)$$

mit dem Diffusionskoeffizienten D und der Konzentration c der Ionen, die durch eine Kugelschale im Abstand $x \geq r$ vom Partikelzentrum eines sphärischen Partikels mit dem Radius r diffundieren. Nach Integration über x von r bis $r + \delta$ erhält man für den Ionenfluss

$$J(t) = 4\pi D \frac{r(r + \delta)}{\delta} [c(r + \delta) - c_s] \quad (1.15)$$

mit der in Gl. (1.11) auftauchenden Ionenkonzentration an der Partikeloberfläche c_s . Für sehr große δ -Werte ($\delta \gg r$) vereinfacht sich Gl. (1.15) zu

$$J(t) = 4\pi r D (c_{bulk} - c_s) \quad (1.16)$$

mit der Konzentration der umgebenden Lösung c_{bulk} . Ein weiterer Ausdruck für den Fluss $J(t)$ stammt von H. Reiss und beschreibt den Fluss als die zeitliche Volumenänderung eines wachsenden Partikels multipliziert mit einem Skalenfaktor

$$J(t) = \frac{A\rho}{M} \frac{d}{dt} \left(\frac{4}{3} \pi r^3 \right) = \frac{A\rho}{M} 4\pi r^2 \frac{dr}{dt} \quad (1.17)$$

wobei sich dieser aus der Avogadro-Zahl A , der Dichte der kondensierten Phase ρ und dem Molekulargewicht der diffundierenden Spezies zusammensetzt. (24) Fasst man diese Parameter zusammen, erhält man

$$J(t) = \frac{4\pi r^2}{V_m} \frac{dr}{dt} \quad (1.18)$$

mit dem Molvolumen des Kristalls V_m . (22) Durch Gleichsetzen von Gl. (1.16) und Gl. (1.18) erhält man für die Wachstumsgeschwindigkeit der Partikel

$$\frac{dr}{dt} = \frac{V_m D}{r} (c_{bulk} - c_s) \quad (1.19)$$

Wie man aus Gl.(1.19) erkennt, sinkt die Wachstumsgeschwindigkeit eines Partikels mit dessen Radius r . Die für Gl.(1.19) erhaltene Varianz σ^2 der Radienverteilung für ein Partikelensemble lautet

$$\frac{d(\sigma^2)}{dt} = 2V_m D (c_{bulk} - c_s) \left[1 - \bar{r} \left(\frac{1}{r} \right) \right] \quad (1.20)$$

wobei \bar{r} bzw. $\left(\frac{1}{r} \right)$ die Mittelwerte von r bzw. $1/r$ sind. Für die rechte Seite von Gl.(1.20) erhält man für $c_{bulk} > c_s$ stets negative Werte, sodass die Varianz der Größenverteilung beim Wachstum der Partikel abnimmt. (22) Wie LaMer und Reiss zeigen konnten, ist der in Abb.1 dargestellte Bereich des „Wachstums durch Diffusion“ dadurch charakterisiert, dass die zeitliche Entwicklung der Radienquadrate für alle Partikel eines Ensembles gleich ist. Diese Eigenschaft führt zu einer einheitlichen Größenverteilung. (24) Die gleiche Aussage steckt auch in Gl.(1.20). Die Version von LaMer und Reiss ist allerdings unvollständig in Bezug auf die Reaktionskinetik der Kristalloberflächen. Das Konzept muss um einen kinetischen Teil erweitert werden, sodass der bereits oben erwähnten Addition und Dissoziation von Bausteinen zur bzw. von der Kristalloberfläche und dem daraus resultierenden Nettofluss Rechnung getragen wird. Nach Sugimoto hängen die Geschwindigkeitskonstanten der Addition k_A bzw. Dissoziation k_D von Teilchen an der Kristalloberfläche wie folgt zusammen (25)

$$k_A c_{s,eq.} = k_D \quad (1.21)$$

mit der Konzentration $c_{s,eq.}$ der mit dem Kristall im Gleichgewicht stehenden Teilchen. Die beiden Geschwindigkeitskonstanten hängen exponentiell vom chemischen Potential der

Oberfläche ab, welches durch die Gibbs-Thomson-Beziehung

$$\Delta\mu = \frac{2\gamma V_m}{r} \quad (1.22)$$

beschrieben wird, und lauten (26)

$$k_A = k_A^0 \exp\left(-\alpha \frac{\Delta\mu}{RT}\right) \quad (1.23)$$

$$k_D = k_D^0 \exp\left((1 - \alpha) \frac{\Delta\mu}{RT}\right) \quad (1.24)$$

Aus diesen Ausdrücken für die Geschwindigkeitskonstanten erhält man direkt die Ionenflüsse J_A und J_D in Gl.(1.11) und (1.12). Durch Vergleich des Nettoionenflusses in Gl.(1.13) mit (1.16) erhält man einen Ausdruck für c_s , der zusammen mit Gl.(1.19) einen Ausdruck für die Wachstumsrate ergibt, der sich vereinfacht wie folgt ausdrücken lässt

$$\frac{dr^*}{d\tau} = \frac{S - \exp(1/r^*)}{r^* + K \exp(\alpha/r^*)} \quad (1.25)$$

mit der Übersättigung $S = c_{bulk}/c_{s,eq.}^0$, alle übrigen Parameter sind ebenfalls dimensionslos. (22) Andere Ausdrücke für die Wachstumsrate stammen von Nielsen und folgen einer linearen, parabolischen oder exponentiellen Abhängigkeit von S . (27) (28) (29) In vielen Fällen genügt aber der lineare Zusammenhang. (30) Bevor es allerdings in Bereich II der LaMer-Kurve zu Nukleation und Wachstum stabiler Keime kommt, verstreicht eine gewisse Zeit t_i , welche eine Kennzahl für ein System darstellt (17) und den Bereich I der LaMer-Kurve determiniert. Diese Induktionsperiode der Ausbildung einer neuen Phase beschreibt die Fähigkeit des Systems, trotz Übersättigung im metastabilen Gleichgewicht zu verbleiben, in dem sich die gebildeten Keime direkt wieder auflösen. (30) Die Induktionsperiode setzt sich aus zwei Anteilen zusammen, die das metastabile Gleichgewicht ab einer kritischen Übersättigung beenden. Zum einen kann dies durch die Bildung eines stabilen Keims und dem Heranwachsen zu einer detektierbaren Größe geschehen, die Zeitspanne bis zu diesem Ereignis wird mit $t_{i,MN}$ entsprechend für einen mononuklearen Mechanismus bezeichnet. Zum anderen kann sich eine große Anzahl stabiler Keime bilden, die ebenfalls zu detektierbaren Größen heranwachsen, entsprechend eines polynuklearen Mechanismus wird die Zeitspanne mit $t_{i,pN}$ bezeichnet. Nach Kashchiev et al. kann die Gesamtinduktionsperiode als Summe beider Anteile in verallgemeinerter Form gemäß (30)

$$t_i = t_{i,MN} + t_{i,PN} \quad (1.26)$$

$$= 1/R_N V + (\alpha/a_n R_N R_G^{n-1})^{1/n} \quad (1.27)$$

mit dem Volumen V der Ursprungsphase, $\alpha = V_m/V \leq 1$ mit einem registrierbaren makroskopischen Volumen des Keims V_m , und dem Formfaktor a_n mit $n = 4$ für sphärische Partikel. Allerdings ist Gl.(1.27) nur unter der Annahme einer konstanten Übersättigung (ab $t = 0$) und auch einer für alle Keime konstanten Nukleationsrate gültig. Da die Nukleations- und die Wachstumsrate jeweils von der Übersättigung abhängen, lässt sich mithilfe von Gl.(1.27) somit auch eine kritische Übersättigung S_{krit} berechnen. Eine Auftragung von t_i gegen S liefert für kleinere S den Grenzfall eines mononuklearen Mechanismus. Hieraus lässt sich somit leicht die Nukleationsrate ermitteln. Für größere Werte von S nimmt $t_i(S)$ dagegen die Form eines polynuklearen Mechanismus an. Gomez-Morales et al. konnten diese Ergebnisse für die Nukleation von Vaterit bestätigen. (31) Gibt es mehrere Polymorphe einer Verbindung wie z.B. bei CaCO_3 , bildet sich gewöhnlich gemäß der Ostwald'schen Stufenregel zunächst die Phase mit der geringsten Dichte (das stark hydratisierte ACC). Diese metastabilen Phasen, die sich besonders zuerst bei hohen Übersättigungen unter kinetischer Kontrolle bilden, wandeln sich in die thermodynamisch stabileren Phasen, im Fall von CaCO_3 sind dies Vaterit, Aragonit und Calcit, um. Allerdings hat ACC auch das höchste Löslichkeitsprodukt ($-\log K_{sp,ACC}(25^\circ\text{C}) = 6.4$), und ist somit durch seine Auflösung in Bezug auf die kristallinen Polymorphe übersättigt. (32) (33) Das Wachstum eines Kristalls wird auch durch die Oberflächenenergie seiner begrenzenden Flächen determiniert. Solche mit hoher Oberflächenenergie sind thermodynamisch ungünstig und werden schnell wachsen. Dagegen wachsen jene mit niedriger Oberflächenenergie nur langsam und bestimmen die Morphologie des Kristalls. Nach der Regel von Wulff muss die Oberflächenenergie aller begrenzenden Flächen für einen Kristall in seiner Gleichgewichtsmorphologie minimal werden. Diese setzt sich aus dem Produkt der Oberflächenspannung γ_i und der Fläche A_i summiert über alle Flächen i nach

$$\sum_i \gamma_i A_i = \Delta G_0 \quad (1.28)$$

zusammen. Molekular betrachtet resultiert die positive Grenzflächenenergie des Kristalls aus dem nicht abgesättigten Oberflächenpotential, wovon ein Teil allerdings durch Solvation, koordinative Bindungen oder Gegenionen aus der Lösung kompensiert werden kann. (34) Die Morphologie des Kristalls kann dann für die nach Gibbs berechnete Oberflächenenergie per Wulff-Konstruktion vorhergesagt werden. (35) Zum klassischen Kristallwachstum existieren

im Wesentlichen zwei Theorien. Nach dem Modell von Volmer, Kossel und Stranski (VKS) werden auf der Kristalloberfläche adsorbierte Gitterbausteine bevorzugt an Ecken von Wachstumsstufen in das Gitter eingebaut, da die Anwesenheit von drei Nachbarn im Gitter den größten Gewinn an Gitterenergie liefert. Somit wandert die Ecke unter Anlagerung weiterer Gitterbausteine entlang der Stufe, bis diese komplett ist. Die so wachsenden Stufen bilden schließlich die begrenzende Fläche des Kristalls. Der thermodynamisch ungünstigste Fall ist dabei die Initiierung einer neuen Fläche. (36) Allerdings kann die 2D-Nukleation auf den niedrig indizierten gesättigten Flächen durch Aufrauungen, bedingt durch thermische Fluktuationen (Frenkel, 1945) oder kinetischer Natur, begünstigt werden. Da auch die 2D-Nukleation stark von der Übersättigung abhängt, ist die Bildung einer neuen atomaren Lage auf einer glatten Fläche eines perfekten Kristalls nach dem Modell von Kossel nur für hohe Übersättigungen gültig. Reale Kristalle besitzen aber aufgrund der Aufrauungen keine perfekt atomar glatten Flächen. Zudem unterliegen die Wachstumsstufen auch im thermischen Gleichgewicht einer ständigen Reorganisation durch sich anlagernde und sich auflösende Gitterbausteine aus der Stufe, sodass diese nicht die von Kossel beschriebene gerade Form besitzen, sondern „ausgefranzt“ erscheinen. (37) In der Tat findet man auch Kristallwachstum bei sehr kleinen Übersättigungen, was das auf der 2D-Nukleation basierende Modell von Kossel ausschließt. Eine Erklärung hierfür liefert das Modell von Burton, Cabrera und Frank (BCF). Diese postulieren Kristallbaufehler als Ursache für die Ausbildung von Schraubenversetzungen, welche die für das Wachstum nötigen Stufenkanten bilden und somit die 2D-Nukleation überflüssig machen. (38) Nach der BCF-Theorie lässt sich die Wachstumsrate in Abhängigkeit von der Übersättigung wie folgt ausdrücken

$$R_G = A\sigma^2 \tanh(B/\sigma) \quad (1.29)$$

mit der Übersättigung $\sigma = S - 1$, wobei $S = c/k_{LP}$, und den temperatur abhängigen Konstanten A und B . Für geringe Übersättigungen kann $R_G \propto \sigma^2$ angenähert werden, für hohe $R_G \propto \sigma$. Mit steigender Übersättigung ändert sich das parabolische Wachstumsverhalten in ein lineares. (39) Somit bestimmt auch die Übersättigung die Morphologie der Kristalle, da in dem kinetisch kontrollierten Regime der hohen Übersättigung zahlreiche 2D-Keime gebildet werden, während sich bei niedrigen Übersättigungen die Gleichgewichtsmorphologie leichter einstellen kann. Beide Wachstumsmechanismen in Abhängigkeit von der Übersättigung konnten von Teng et al. mittels AFM-Messungen an Calcit sehr eindrucksvoll demonstriert werden. (40) Zusätzliche Additive können das Kristallwachstum ganz entscheidend beeinflussen. Diese können entweder an die Wachstumsstufen (Kubota-Mullin-Modell), (41)

oder auf die Kristallflächen (Cabrera-Vermilyea-Modell) adsorbieren, wodurch es zu einer Krümmung der Wachstumsstufen kommt. (42) Die Adsorption an Flächen und Wachstumsstufen führt sowohl zu einer thermodynamischen Stabilisierung der Oberfläche als auch zu einer kinetischen Hemmung der Wachstumsstufen. Allerdings können adsorbierte Additive auch das Kristallwachstum fördern, wie im Fall des Proteins Perlucin. (43) Im Gegensatz zum bisher betrachteten klassischen Nukleations- und Wachstumsmechanismus, der für niedrigere Übersättigungen unter thermodynamischer Kontrolle gültig ist, führt die Verwendung von hohen Konzentrationen sowohl der Reaktanden als auch der Additive zu einer komplexeren Situation. So konnte Rieger et al. in einer wegweisenden Arbeit zeigen, dass das rasche Mischen jeweils einer 0.01 M CaCl_2 und Na_2CO_3 -Lösung zunächst zu einer spinodalen flüssig-flüssig Phasenseparation einer amorphen dichteren und einer weniger dichteren Phase führt, aus deren Verdichtung sich durch das „Ausschwitz“ von Wasser amorphe Nanopartikel bilden. Dieses Bild widerspricht der klassischen Nukleationstheorie in dem Sinne, dass hier keine anfänglichen Nukleationskeime vorhanden sind. Eine Erklärung liegt in der raschen Übersättigung, welche das System direkt in die spinodale Region des Phasendiagramms überführt, ohne dass sich einzelne Keime in der binodalen Region bilden. (44) Die Möglichkeit eines flüssig-flüssig (spinodalen) Phasenseparationsmechanismus als Reaktionsweg für amorphe Nanosphären wurde auch von Faatz et al. in Betracht gezogen, allerdings konnten die Autoren die frühe Phasenseparation nicht nachverfolgen. (45) In Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen können so bei gleicher Temperatur unterschiedliche Morphologien erhalten werden, je nachdem ob sich die mineralische Phase in der binodalen oder der spinodalen Region des Phasendiagramms bildet. Auf diese Weise lassen sich auch verschiedene strukturelle Phasen von amorphem Calciumcarbonat mit unterschiedlichen Stabilitäten erzeugen, wie sie bereits für biogenes ACC von Levi-Kalisman et al. nachgewiesen werden konnten. (46) In Verbindung mit Polycarboxylaten oder Polypeptiden können die aus der flüssig-amorphen Phase entstandenen ACC-Nanopartikel stabilisiert werden und zu Polykristallen aggregieren. (47) Auf dieses erweiterte Konzept der flüssig-flüssig Phasenseparation im Zusammenhang mit dem PILP-Mechanismus soll im übernächsten Abschnitt näher eingegangen werden. Auch klassisch betrachtet führt eine hohe Übersättigung und eine damit verbundene hohe Nukleationsrate zur Bildung von vielen Nanokristalliten, die durch das Additiv flächenselektiv stabilisiert werden können, wodurch die spätere Selbstanordnung der Nanopartikel zu Kolloidkristallen in kristallographischer Ausrichtung determiniert werden kann. Dieser auf Aggregation basierende Reaktionspfad wird der

nichtklassischen Kristallisation zugeordnet und ist Bestandteil vieler in der Natur tatsächlich ablaufender Prozesse. (34) Meistens verläuft dieser Kristallisationsmechanismus über amorphe Vorstufen entsprechend der Ostwald'schen Stufenregel.

1.2 Vorbild Natur – komplexe Kristallisationssysteme

Calciumcarbonat verfügt über einen sehr reichhaltigen Polymorphismus. Es existieren drei wasserfreie Polymorphe: der trigonale Calcit (Raumgruppentyp $R\bar{3}c$), der orthorhombische Aragonit (Raumgruppentyp $Pnma$) und der monokline Vaterit (Raumgruppentyp $C2/c$). (48) (49) Darüber hinaus existieren drei hydratisierte Polymorphe, Monohydrocalcit, (50) monokliner Ikaite (CaCO_3 Hexahydrat) (51) (52) und amorphes Calciumcarbonat (ACC). Obwohl im klassischen Sinn die Anordnung der Ionen in der Elementarzelle und die daraus resultierenden Atomlagen die äußere Gestalt eines Einkristalls vorgibt, der sich durch glatte Flächen unter konstanten Winkeln zwischen diesen auszeichnet (nach Nicolas Steno, 1669), (53) findet man in der Natur zahlreiche Einkristalle mit ungewöhnlichen Morphologien. Diese Kristallisationsprozesse laufen über ein transientes amorphes Calciumcarbonat (ACC) ab, welches als Vorstufe für die thermodynamisch stabileren Polymorphe Aragonit und Calcit dient. (54) (55) Dieser Prozess wird in der Regel durch die Anwesenheit von organischen Matrices begleitet, die die spätere Kristallitgröße, Morphologie und Polymorphie des Kompositmaterials beeinflussen. (56) (14) Dieser Reaktionsweg ermöglicht die Formgebung durch Substrate wie organische Matrices oder Zellen. Eine weitere Möglichkeit ist die Aggregation von kristallinen Nanopartikeln in kristallographischer Orientierung zueinander, wodurch komplexe Morphologien mit einkristallinem Beugungsverhalten entstehen. Die auf diese Art gebildeten Biominerale werden etwas später vorgestellt. Ein sehr bekanntes Beispiel für den ersteren Fall der amorphen Vorstufen ist die Aufklärung des Bildungsmechanismus des Endoskeletts von Seeigellarven. (57) In dieser Arbeit konnten die Autoren nach eigenen Angaben zum ersten Mal den Transformationsprozess von amorphem Calciumcarbonat zu Calcit beim Wachstum der Spiculae aufzeigen (Abb.3). Das Kristallwachstum beginnt hiernach im Synzytium mesodermaler Zellen mit der Ausbildung eines Calcitrhomboeders, von dem aus radial die Spiculae zunächst entlang der a-Achsen des trigonalen Kristallsystems wachsen und dann in einem späteren Entwicklungsstadium in Richtung der c-Achse „abbiegen“ (Abb.4). Beniash et al. konnten mittels Diffraktion und IR-Spektroskopie an den Larven zeigen, dass es sich bei der Bildung tatsächlich um transientes amorphes Calciumcarbonat handelt, über dessen

Bereitstellung an der richtigen Stelle die Autoren spekulieren, dass zum einen Vesikel hierfür verantwortlich sein könnten, zum anderen sich das ACC direkt durch Übersättigung in der Reaktionsumgebung bildet. (57) (58) In jedem Fall wird die Transformation zu den kristallinen Spiculae von den umgebenden Zellen beeinflusst. Hier zeigt sich das zugrunde liegende Prinzip der Bildung einer zunächst amorphen Spezies des Minerals, welches durch lösliche organische oder anorganische (z.B. Mg^{2+}/Sr^{2+} -Ionen) (59) Additive stabilisiert und durch ein äußeres

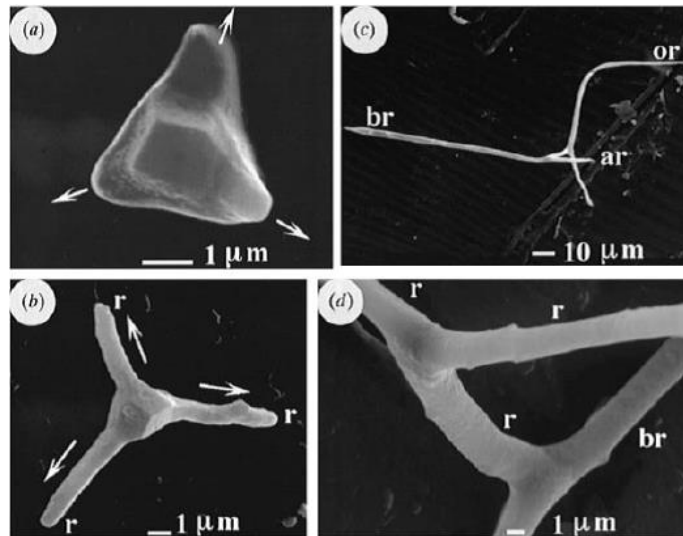


Abb. 3 Verschiedene Entwicklungsstadien des Seeigels *Paracentrotus lividus*, (a) 20 h Embryo, Pfeile entlang der a-Achsen eines rhomboedrischen Calcits, (b) 25 h Embryo, (c-d) 48 h Embryo, Pluteus Stadium, Ausbildung einer triradiaten Spiculasymmetrie, die Stäbchen wachsen entlang der c-Achse; übernommen aus (57)

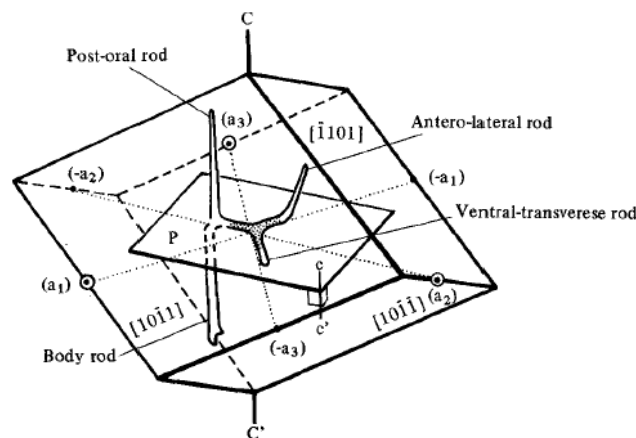


Abb. 4 Darstellung des voll entwickelten Pluteus Stadiums von *Paracentrotus lividus* im trigonalen Kristallsystem von Calcit mit umgebendem Rhomboeder zur Veranschaulichung; übernommen aus (60)

Templat geformt wird, bevor die Transformation zum Einkristall stattfindet. An der ACC-Stabilisierung sind häufig sogenannte Asprich-Proteine beteiligt. Die Asparaginsäureeinheiten können Calciumcarbonat in seiner amorphen Phase stabilisieren, wodurch dem Organismus ein Speicher für Calcium- und Carbonationen zur Verfügung steht. (61) Diese Makromoleküle

werden während der Transformation zur kristallinen Variante interkaliert, wodurch Kompositmaterialien mit ungewöhnlichen Eigenschaften entstehen. (62) Das Exoskelett der Kalkalge *Emiliana huxleyi* stellt ein besonderes Beispiel für eine Templat-gestützte Biomineralisation von Calcit-Einkristallen dar (Abb.5). Nach der Demineralisierung bleibt eine organische Replicamatrix zurück, was auf eine Kristallisation in einer Gelumgebung hindeutet. (34) Einen detaillierten Einblick in den Wachstumsmechanismus gibt der Artikel von Young et al. (63) Calciumcarbonat in Form von Aragonit und Calcit liegt im wohl bekanntesten Biokompositmaterial vor, dem Perlmutter. Die schichtenweise Stapelung aus der harten mineralischen Komponente mit einer interkalierten duktilen, weichen organischen Komponente erhöht die Bruchfestigkeit des Materials um den Faktor 3000 in Bezug zum reinen Mineral. (64) Perlmutter gilt als ein Beispiel für einen natürlichen mesoskopisch strukturierten Kristall, auch Mesokristall genannt. (65) Diese zeichnen sich durch den Aufbau aus kristallinen

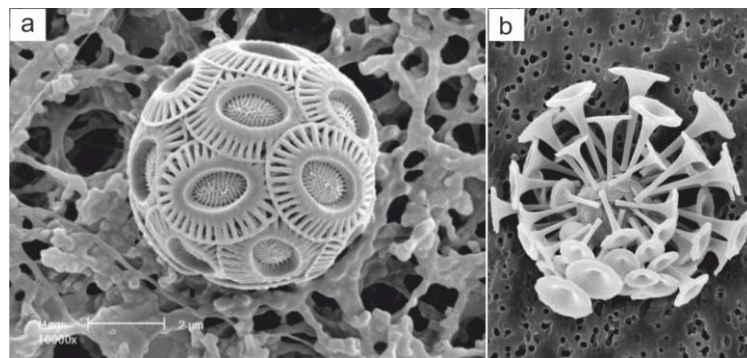


Abb. 5 (a) SEM-Aufnahme der Kalkalge *Emiliana huxleyi* und (b) der Kalkalge *Discosphaera tubifera*; entnommen von Natural History Museum Picture Library, <http://www.nhm.ac.uk/>

Nanopartikeln mit gegenseitiger kristallographischer Orientierung mit vorhandener Fernordnung und scharfen Reflexen im WAXS aus. Im Perlmutter sind die ~ 500 nm dicken Aragonitplättchen allerdings mikrostrukturiert, die gegenseitige kristallographische Orientierung in [001]-Richtung wird aber durch Mineralbrücken durch Poren hindurch gewährleistet. In der Natur gibt es noch eine Reihe weiterer Vorbilder, bei denen sowohl eine organische Matrix als auch lösliche Proteine als „weiche“ Komponente zusammen mit einer anorganischen amorphen Struktur ein stabiles und zugleich flexibles Biomineral bilden. Ein bekanntes Beispiel bilden hierbei die Demospongiae, deren Skelettnadeln (spiculae) aus enzymatisch hergestelltem Biosilica (SiO_2) bestehen. Diese wurden in einer ausführlichen Arbeit von Müller et. al. untersucht. (66) Generell gibt es zwei Klassen von Schwämmen (Porifera), deren Gerüst aus Biosilica besteht, die Demospongiae und die Hexactinellida. Müller et al. gelang es, aus dem Schwamm *Suberites domuncula* (Abb.6a) ein enzymatisch

aktives Protein, das Silicatein, zu extrahieren, welches die Bildung von Biosilica aus Silica-Vorstufen, z.B. Alkoxiden des Siliciums, katalysiert. Bei dem Enzym handelt es sich um ein dem Cathepsin L verwandtes 23-kDa Protein, das sich vor allem im Axialfilament (Abb.6d) der Spiculae befindet. (67) Die dabei entstehenden Nadeln können bis zu 450 μm lang und 5-7 μm breit werden. In der Mitte befindet sich ein 0.3 bis 1.6 μm weiter Axialkanal (Abb.6c).

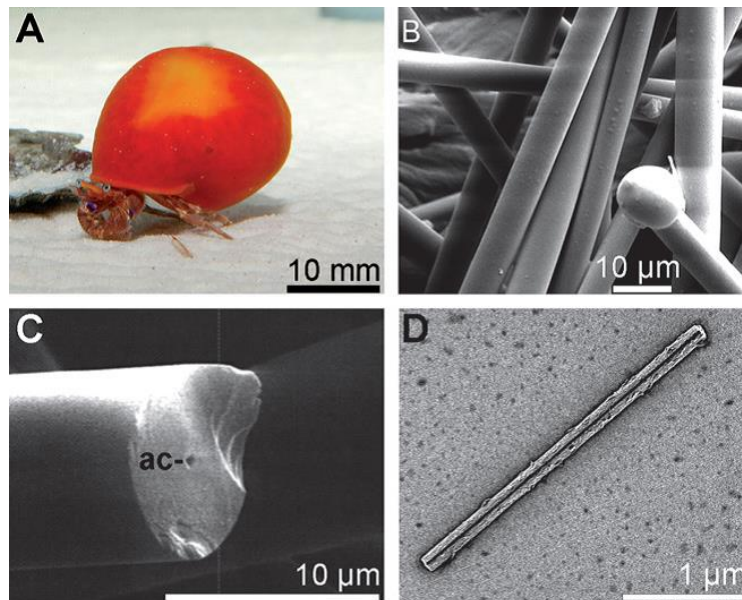


Abb. 6 (a) Demosponge *Suberites domuncula* mit Einsiedlerkrebs, (b) SEM-Aufnahme der Tylostylen (Spiculae) mit einem runden und einem spitzen Ende, (c) Axialkanal (ac) und (d) Axialfilament, übernommen aus (68)

In diesem Beispiel aus der Natur dient die aus dem Axialkanal bestehende Matrix als strukturdirigierendes Templat zur Silica-Bildung. Der Prozess lässt sich grob in drei Schritte einteilen. Das in den Sclerozyten gebildete Silicatein bildet die intrazellulären Axialfilamente aus, um die die ersten Silica-Schichten katalytisch entstehen. Danach findet weiteres Wachstum der nun extrazellulären Nadeln statt. Müller et al. konnten mittels Nanogold markiertem Antikörper das Silicatein sowohl am Axialfilament als auch auf der Oberfläche der wachsenden Stäbchen nachweisen. Zusammen mit Galectin bildet das Enzym in Anwesenheit von Ca^{2+} -Ionen Komplexe, die sich konzentrisch um die Spiculae anordnen. Man kann somit den Aufbau der Stäbchen mit den Jahresringen bei Bäumen vergleichen. Die endgültige Formgebung findet durch Collagenfasern statt, die die Silicatein/Galectin-2 Komplexe orientieren. Wie bereits oben erwähnt, ist die SiO_2 -Bildung ein enzymatischer Prozess. Silicatein- α , verfügt über eine katalytische Triade von drei Aminosäuren (Ser aa₁₃₈, His aa₂₇₇ und Asn aa₂₇₉), wobei die Hydrolyse des Alkoxids über ein intermediäres Addukt der Hydroxylgruppe des Serins an das Si-Zentrum unter Polarisierung des Histidin-Restes stattfindet. Dieses Addukt wird wiederum

unter Einwirkung von Histidin hydrolysiert, wobei sich das Silanol abspaltet. Auf den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Hydrolyse folgt die Polykondensation des Silanols zum Biosilica (Abb. 7). (67)

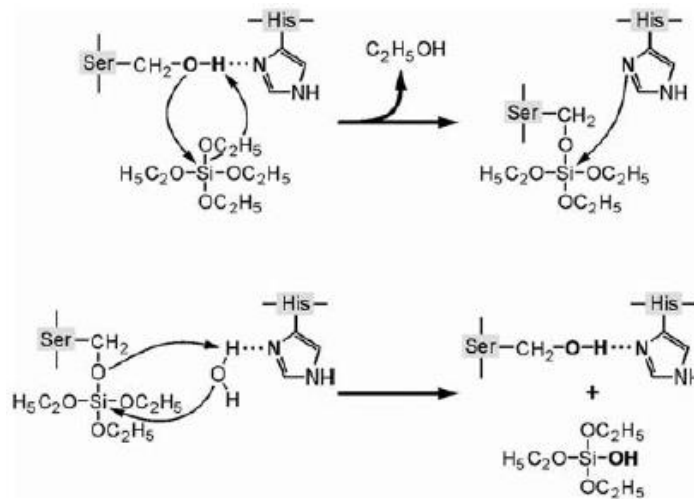


Abb. 7 Von Cha et al. vorgeschlagener Mechanismus der katalytischen Hydrolyse eines Si-Alkoxids mittels der beiden Aminosäuren Ser (aa₁₃₈) und His (aa₂₇₇) des Enzyms Silicatein (67); übernommen aus (66)

Neben den Silica-basierten Schwämmen existieren auch solche mit einer aus Calciumcarbonat bestehenden Matrix, die sogenannten Calcarea. Einen Überblick über die Rolle von speziellen Proteinen auf das Wachstum dieser Kalkschwämme bietet der Artikel von Aizenberg et al. (62) Die oben genannten Beispiele verdeutlichen den wichtigen morphogenetischen Einfluss von Proteinen und Kompartimenten auf das Wachstum des Biomaterials. In vielen Fällen verläuft der biogene Reaktionsweg über eine transiente amorphe Phase, die durch saure Proteine, welche oft an eine organische Matrix gebunden sind, stabilisiert wird. Dieser Mechanismus hat den Vorteil, dass die mineralische Komponente in Form einer amorphen Vorstufe gespeichert wird, welche dann durch das Templat an der richtigen Stelle entsprechend geformt werden kann, in der dann die Transformation in die spätere einkristalline Phase stattfindet. Als lösliche organische Additive dienen meist Asparagin- und Glutaminsäure- und auch Serin-reiche Proteine. (69) Als organische Matrix dienen häufig Vesikel, (70) Zellkompartimente wie im oben erwähnten Fall der Seeigellarven, oder β -Chitin im Fall von Perlmutter. (71) Durch dieses perfekte Zusammenspiel verschiedener Komponenten mit unterschiedlichen Funktionen und den daraus resultierenden Materialeigenschaften definiert sich das synthetische Ziel der Biomimetik, die zugrunde liegenden Mechanismen zu verstehen und mit Modellschubstanzen nachzuvollziehen. Mittels dieser wird versucht, ein Verständnis über die molekulspezifischen

Wechselwirkungen zwischen der organischen und der anorganischen Komponente zu gewinnen. Diese Methodik soll im übernächsten Abschnitt behandelt werden.

1.3 Nichtklassische Kristallisation

Wie bereits in Abschnitt 1.1 erwähnt, führen Reaktionsbedingungen, welche sich im Phasendiagramm in der spinodalen Region befinden, zu Abweichungen von der CNT. Grundlage sind die von Gibbs eingeführten und von Cahn und Hilliard weiter ausgeführten Konzentrationsfluktuationen, die thermodynamisch begünstigt sind. (72) (33) Diese nehmen mit steigender Konzentration zu. Welchen Einfluss die Reaktionsbedingungen bei gegebener Temperatur auf die Morphologie der Phase haben, sei anhand des hypothetischen Phasendiagramms von Faatz et al. am Beispiel von ACC gezeigt (grüne Reaktionskoordinate in Abb.8). (45) An Punkt A befindet sich das System nach der CNT im untersättigten Bereich, in dem eine homogene Lösung vorliegt. Die binodale Kurve (Punkt B) beschreibt hiernach den Zustand eines gesättigten Systems, die gelösten Ionen eines Elektrolyten stehen hier nach dem Löslichkeitsprodukt (vgl. Gl. (1.1)) im Phasengleichgewicht mit dem Festkörper. In der Sprache der CNT gilt an dieser flüssig-fest Koexistenzlinie $S = 1$. (73) Im Bereich zwischen

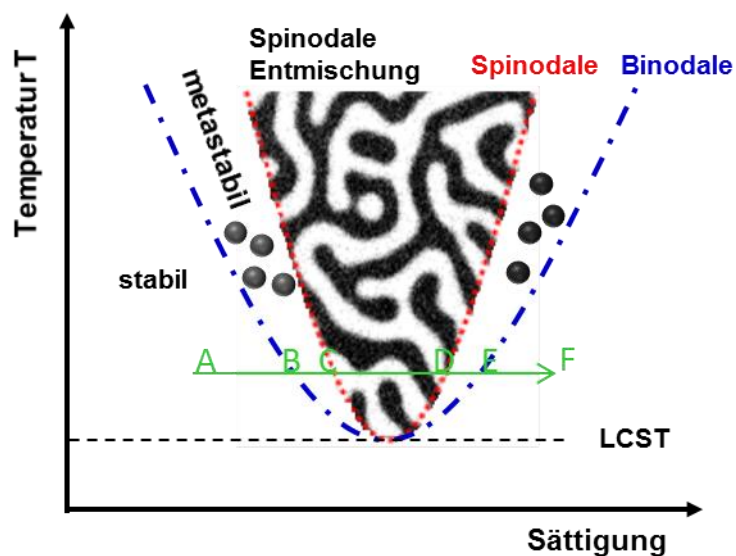
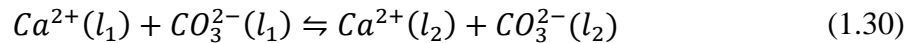


Abb. 8 Phasendiagramm eines binären Systems mit einer unteren kritischen Lösungstemperatur (LCST), welche die Binodale und die Spinodale fixiert; mit Veränderungen übernommen aus (45) (74)

der binodalen und der spinodalen Kurve (zw. B und C) wird das System metastabil, die Konzentrationsfluktuationen führen zur Bildung von Keimen. Nach Gibbs wird dieser durch die Bildung von einzelnen Keimen mit Eigenschaften der stabileren Phase charakterisiert,

allerdings jeweils mit sehr kleiner Ausdehnung. Diese Keimbildung ist mit der in der CNT beschriebenen identisch. Dagegen basiert die spinodale Entmischung (der Bereich zw. C und D) auf kleinen Konzentrationsfluktuationen, die sich allerdings über ein großes Volumen erstrecken. Ist eine Phase in Bezug auf diese kleinen Fluktuationen instabil, so ist die Transformation zur stabileren Phase nur noch diffusionslimitiert. In der spinodalen Region des Phasendiagramms geht jegliche Ähnlichkeit zu den klassischen Keimen verloren. Die Instabilität des Systems, thermodynamisch beschrieben durch eine negative zweite Ableitung der Gibbs-Energie (freie Enthalpie) nach der Konzentration, drückt sich in einer spontanen und gleichförmigen Entmischung über das gesamte Volumen aus. (72) (73) Die spinodale Entmischung kann auf Grund ihrer Eigenschaften als eine Art flüssig-flüssig Phasenseparation betrachtet werden. Wie bereits in Kap.1.1 beschrieben, deutet die von Rieger et al. durch das rasche Mischen der Ausgangskomponenten unter hoher Übersättigung erhaltene amorphe emulsionsartige Phase auf obige Beschreibung hin. (44) Die sich in der spinodalen Region durchdringenden Bereiche hoher und niedriger Konzentration sind nach Garcia-Ojalvo et al. im Phasendiagramm visualisiert (Abb. 8 C-D). (74) Erstere verdichten sich weiterhin unter Verlust von Wasser zu einem amorphen Gel. Dagegen postulierten Faatz et al. für die mittels basischer Hydrolyse von Alkylcarbonaten erhaltenen sphärischen ACC-Partikel einen binodalen flüssig-flüssig Phasenseparations-Mechanismus. (45) Den Autoren zufolge entwickeln sich diese aus den gebildeten flüssigen Tropfen durch eine unter Wasserverlust stattfindende Verdichtung hin zu amorphen sphärischen Partikeln. Dennoch wurden in dieser Arbeit keine analytischen Nachweise zur tatsächlichen flüssig-flüssig Phasenseparation erbracht. Allerdings konnten Wolf et al. die Bildung einer frühen flüssig-flüssig Phasenseparation von amorphem Calciumcarbonat mittels der Kitano-Methode in einem schwebenden Tropfen in situ nachweisen. (75) Durch die kontrollierte Erhöhung der Übersättigung mittels der Kitano-Methode kann man für diese Phasenseparation einen binodalen Mechanismus annehmen. Dieser verläuft ähnlich zur oben beschriebenen Variante, allerdings muss sich dazu die Mischungslücke im metastabilen Bereich des Phasendiagramms befinden, damit es zu einer flüssig-flüssig Phasenseparation kommen kann. Wird die Binodale durch langsame Übersättigung im Phasendiagramm erreicht, kommt es zur Separation einer dichteren flüssigen Phase, die mit der gesättigten Ursprungslösung im Gleichgewicht steht. Beide Phasen besitzen eine unterschiedliche Zusammensetzung (Punkte B und E in Abb.8), die von der Temperatur abhängt, und stehen in folgendem Gleichgewicht miteinander (73)



mit der gesättigten Ursprungslösung l_1 und der dichteren Phase l_2 . Gl. (1.30) lässt sich auch mit Hilfe der Gleichgewichtskonstanten $K(l_1l_2) = IAP(l_2)/IAP(l_1)$ ausdrücken, wobei IAP das Ionenaktivitätsprodukt von $CaCO_3$ in der jeweiligen Phase ist. Im Bereich zwischen Punkt B und E in Abb.8 (Zweiphasengebiet) stehen die beiden Phasen in unterschiedlichen Mengenverhältnissen zueinander im Gleichgewicht, ihre Zusammensetzung entspricht aber immer derjenigen an B und E. Über E hinaus kommt es wieder zur Bildung einer einzigen homogenen dichten Phase. Senkt man die Temperatur, erhöhen sich dadurch die Mischungsanteile der einen Phase in der jeweils anderen. Unterhalb einer für das System charakteristischen kritischen Entmischungstemperatur (LCST, Lower critical solution temperature) sind beide Phasen komplett ineinander mischbar. Die LCST fixiert dabei die Binodale im Phasendiagramm. Ursprünglich wurde eine flüssig-flüssig Phasenseparation von $CaCO_3$ im Zusammenhang mit Polyelektrolyten wie der Poly(asparaginsäure) oder der Poly(acrylsäure) (PAA) beobachtet, welche in der Lage sind, die flüssig amorphen Phasen zu stabilisieren. (76) Dieser von Gower et al. beschriebene PILP-Mechanismus (Polymer Induced Liquid Precursor) lässt sich für die Bildung eines kristallinen Films auf einem Substrat grob in vier Teilschritte einteilen. Nach der Phasenseparation von isotropen flüssig-amorphen Tropfen von der umgebenden Lösung koaleszieren diese auf dem Substrat zu einem Film, der einer Transformation von der amorphen zur kristallinen Phase unterliegt, wobei sich zunächst einzelne einkristalline Bereiche bilden, die schließlich zu einem einheitlichen aus einkristallinen Domänen bestehenden Film zusammenwachsen. (77) Dieser Mechanismus basiert auf der Eigenschaft der Polyelektrolyte, durch Komplexierung der Ca^{2+} -Ionen und der elektrostatischen Wechselwirkung mit dem polaren Lösungsmittel die dichte Phase mit Wasser anzureichern und so im amorphen Zustand zu stabilisieren. Der Polyelektrolyt dient dabei als Ionenschwamm für die Ca^{2+} -Ionen und inhibiert nebenbei die Ausbildung von Nukleationskeimen und deren Wachstum. (34) (76) Dieser Prozess dient dabei als geeignete Methode, um kristalline Phasen mit Morphologien eines beliebigen Templats herzustellen. Diese späteren kristallinen Strukturen können dann dünne Filme, (78) (79) mesoskopisch strukturierte Einkristalle, (12) oder Nanofaser-artige Minerale (80) (81) bilden. Die organischen Makromoleküle nehmen bei diesen Prozessen eine bedeutende Rolle ein, da sie die metastabilen Phasen stabilisieren und mit dem umgebenden Mineral ein Kompositmaterial bilden, dessen morphologische und mechanische Eigenschaften sich von denen der reinen kristallinen Phase

unterscheidet, indem die Brüchigkeit durch eingelagertes Polymer herabgesetzt wird. In den folgenden Kapiteln sollen mehrere Systeme vorgestellt werden, bei denen die nichtklassische Kristallisation als Mechanismus in Frage kommt. Dieser wird entweder durch die eingesetzten Additive wie Polyelektrolyte oder Proteine induziert oder durch Kristallisation in Kompartimenten (Mikroumgebungen). Erstaunlicherweise sind auch funktionalisierte Nanopartikel dazu in der Lage, wie in Kap. 3 weiter ausgeführt wird.

1.4 Biomimetische Kristallisationssysteme

1.4.1 Calciumcarbonat-Kompositkristalle

In den letzten Jahren gab es einige Arbeiten zum Thema Kristallisation in abgegrenzten Reaktionsräumen („confined space“), die die Prinzipien in der Natur, Polymorph- und Morphologie-Kontrolle über Biominerale mittels geeigneter Template und spezifischer Makromoleküle auszuüben, (82) (83) mit synthetischen Analoga nachahmten. Ziel dieser Arbeiten war es, den Einfluss von künstlichen Kompartimenten und Additiven auf die bei der Kristallisation von Calciumcarbonat ablaufenden Nukleations- und Transformationsprozesse der verschiedenen Phasen zu untersuchen. Dabei konnte transientes amorphes Calciumcarbonat (ACC) in den Poren einer Poly(carbonat)-Tracketch Membran (PC-TE) gefällt werden, wodurch einkristalline Calcit-Nanostäbchen in den Dimensionen der Membranporen erhalten wurden. Dabei wurden von den Autoren zwei Möglichkeiten der intermediären Stabilisierung von ACC verwendet. Zum einen durch hohe Übersättigungen bei tiefen Temperaturen (4 °C), und zum anderen mittels Polyelektrolyt (PAA) induziertem PILP-Mechanismus. Zum ersteren Fall sei bemerkt, dass durch hohe Übersättigungen amorphe Phasen als kinetisches Produkt auftreten können. (33) Zusätzlich dazu verzögert die niedrige Temperatur die Umwandlung in das thermodynamisch stabile Polymorph Calcit. Die Einkristallinität der so von Meldrum erhaltenen Calcit-Spiculae wurde darauf zurückgeführt, dass sich zunächst das Innere der Poren vollständig mit der amorphen PILP-Phase mittels Kapillarkräften gleich einer Flüssigkeit füllt und anschließend wenige Nukleationsereignisse die Kristallisation induzieren, welche sich durch den anisotropen ACC-Partikel fortsetzt. Ein analoges Beispiel der Substrat vermittelten Formgebung von Calcit-Einkristallen via nukleations-induzierter Kristallisation von ACC an wenigen Stellen stammt von Aizenberg et al. (84) Im Fall der Membranporen sorgen diese dafür, dass der Kontakt zwischen der mineralischen Phase und der Lösung stark eingeschränkt wird, wodurch es zu einer langsameren Phasentransformation von ACC durch Reduktion der

Nukleationsereignisse kommt. Laut Meldrum wäre auch die Alternative dazu denkbar, dass es trotz mehrerer Nukleationsereignisse einen Vorzugskern gibt, der auf Kosten der anderen unter Bildung eines Einkristalls wächst. (85) (86) Jedenfalls gab es für die in den 50 nm Poren präzipitierten anisotropen Calcit-Einkristalle keine Hinweise auf eine nanopartikuläre Mikrostruktur. Zum Einfluss der Porengröße der Membrane und der Ionenkonzentration der reaktiven Spezies CaCl_2 und Na_2CO_3 auf den Habitus der Kristalle gab es von Lose et al. eine umfangreiche Untersuchung. (87) Ohne den Zusatz von Additiven wurden für 3.0 μm , 0.8 μm und 0.2 μm große Porendurchmesser für Konzentrationen von jeweils 14 mM Lösungen bei Raumtemperatur nach 24 h Reaktionszeit stäbchenförmige Kristalle mit glatter Oberfläche erhalten, deren Entstehung auf granularen zylindrischen ACC Partikeln beruht, die nach 15 min nachgewiesen werden konnten. Dagegen zeigten die Kristalle bei den gleichen Porengrößen nach 24 h, jedoch unter Verwendung von 8 mM Lösungen, für Calcit typische planare Flächen. Unter diesen Umständen konnten von den Autoren zu frühen Zeitpunkten der Kristallisation keine sphärischen ACC Partikel nachgewiesen werden. Das Wachstum der in den Poren nukleierten Kristalle läuft hier also klassisch über die Anlagerung von Ionen an den wachsenden Kristall ab. Im Fall der amorphen sphärischen Vorstufen vermuten die Autoren, dass die ACC-Partikel an die Membranwände adsorbieren und schließlich das Porenvolumen gefüllt wird. Im Fall der kleineren Porendurchmesser bilden sich dann Einkristalle durch Nukleationsereignisse an den Enden der Membranporen. Dagegen bieten größere Porendurchmesser keine ausreichende Abschirmung gegenüber der Lösung, sodass die an den Membranwänden adsorbierten ACC-Nanopartikel Auflösungs- und Rekristallisationsprozessen unterworfen sind, wodurch es zu vielen Nukleationsereignissen und einer polykristallinen Struktur kommt. Diese Umwandlung von transienten ACC-Partikeln in Calcit entspricht dabei genau dem Prinzip der bereits oben erwähnten Spiculogenese des Endoskeletts der Seeigellarven. Meldrum et al. gelang erst kürzlich (2014) die Stabilisierung von Additiv-freien einkristallinen Vaterit-Nanostäbchen. (88) Dazu wurden PC-Membrane der Firma Millipore und Sterlitech, die auf der Oberfläche mit Poly(vinylpyrrolidon) (PVP) funktionalisiert waren, mit jeweils einem Porendurchmesser von 200 nm in einer 10 mM CaCl_2 -Lösung mit der Ammoniumcarbonat-Diffusionsmethode behandelt. Hierbei zeigten jedoch nur die Millipore-Membrane gute Ergebnisse und ergaben einkristalline Vaterit-Stäbchen mit einer Länge von 10 μm . Die 10-fache Ca^{2+} -Konzentration (0.1 M) führte zu langen Stäbchen in beiden Membrantypen, allerdings zeigten Elektronenbeugungsdaten aufgrund der rascheren Wachstumskinetik zunehmend auch polykristalline Bereiche. Wie die Autoren weiterhin zeigen konnten, wurde

die vateritische Phase allein durch die räumliche Begrenzung der Poren und nicht durch PVP auf der Oberfläche stabilisiert, wie Vergleichsexperimente ergaben. Über die Ursache der Stabilisierung der vateritischen Phase spekulieren die Autoren, dass durch eine evtl. Organisation der Oberflächenbeschichtung der Membranporen eine Ca^{2+} -Ladungsanhäufung und eine daraus resultierende lokale Übersättigung induziert wird, welche das kinetische Produkt stabilisiert. Zum Zeitpunkt der vollständigen Füllung der Membranporen ergaben vergleichende Kristallisationen in der Petrischale bereits eine komplette Umwandlung von ACC in Calcit, sodass, wie die Autoren betonen, die Stäbchen wohl eher durch Ionendiffusion als über transiente ACC-Nanopartikel entstehen. Die Einkristallinität der Probe hat dabei die selben Ursachen wie oben beschrieben. Diese Arbeiten zeigen im Wesentlichen, dass es prinzipiell möglich ist, ohne zugesetzte Additive thermodynamisch metastabile Phasen von Calciumcarbonat als Einkristalle allein durch Mikroreaktionsräume zu stabilisieren. Das vereinfachte System, die Wirkung der Membranporen ohne zusätzliche Additive zu betrachten, liefert dabei wichtige Erkenntnisse über den Einfluss von Mikroumgebungen auf Kristallisationsprozesse und damit die Rolle von Kompartimenten wie dem Synzytium mesodermaler Zellen bei den Seeigellarven. Da in der letzteren Arbeit die Membranporen mit PVP funktionalisiert waren und die Ergebnisse von der Wahl der Membran abhängen, zeigen die Resultate, dass kleinste Veränderungen in der Mikroumgebung ausschlaggebend für die Kristallisation sind. Insofern ist auch hier die Frage nicht vollständig geklärt, welchen Einfluss nun der Mikroreaktionsraum und welchen die Oberflächenchemie dabei hat. Prinzipiell eignen sich für die Kristallisation von Biomineralen in den Membranporen zwei unterschiedliche Methoden. Zum einen die Doppeldiffusionsmethode (DDM), bei der die beiden löslichen Komponenten von zueinander gegenüberliegenden Seiten in einem U-Rohr jeweils in die Membranporen eindiffundieren und dort als Biomineral auskristallisieren (Abb.9a). Zum anderen die Ammoniumcarbonat-Diffusionsmethode (ADM), bei der sich durch Zersetzung von $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ zu NH_3 und CO_2 und Eindiffundieren der beiden Gase in eine CaCl_2 -Lösung langsam eine Übersättigung in Bezug auf das Löslichkeitsprodukt von CaCO_3 einstellt. Gleichzeitig sorgt der eindiffundierende Ammoniak für den nötigen basischen pH-Wert, um das Carbonat/Hydrogencarbonat-Gleichgewicht auf die Carbonat-Seite zu verschieben (Abb.9b). (89) (90) Während sich mittels der ADM Kristallisationen auch in kleineren Volumina durchführen lassen, insbesondere bei Proteinen als Additiven, imitiert die DDM das biogene Prinzip nahezu perfekt, da die Methode komplett in Lösung stattfindet und keine Gasphasen benötigt. Zudem wird hier der Diffusionsmechanismus, der charakteristisch für

Kompartimente ist, für die beiden Komponenten besser realisiert. Deswegen wurde diese Methode auch für die nachfolgenden Kristallisationen verwendet. Zunächst wurde die Kristallisation von Calcit-Stäbchen mittels PILP-Phase in 400 nm Poren von un-funktionalisierten PC-TE-Membranen (Sartorius) als Referenzsystem untersucht. Des

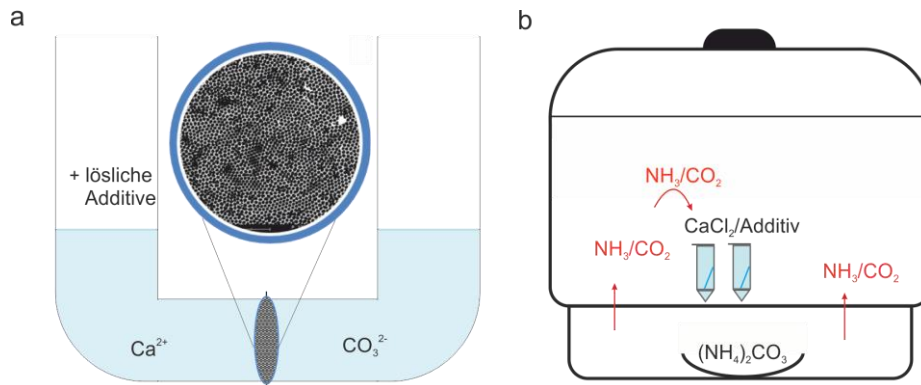


Abb. 9 (a) U-Rohr/Membran-synthese von Calciumcarbonat durch Doppeldiffusion, (b) Ammoniumcarbonat-Diffusionsmethode: NH_3 und CO_2 diffundieren in die mit 10 mM CaCl_2 gefüllten Eppendorf-Röhrchen, in deren Deckel sich zwei kleine Löcher befinden, das zerstoßene $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ist mit Parafilm abgedeckt, das mit 5 Löchern versehen wurde

Weiteren wurden Membrane aus anodisiertem Aluminiumoxid der Firma Whatman mit einem Porendurchmesser von 200 nm verwendet. Um die noch offenen Fragestellungen zu untersuchen, welche Mechanismen den Kristallisationen in Kompartimenten zugrunde liegen, welche Unterschiede es zwischen einer transienten PILP-Phasenumwandlung oder einer reinen Ionendiffusion gibt, ob sich durch Kompartimente alleine thermodynamisch metastabile Phasen stabilisieren, und ob sich die Resultate für Calciumcarbonat verallgemeinern lassen, wurde das System auf ein weiteres wichtiges Biomineral angewendet.

1.4.2 Calciumoxalat-Kompositkristalle

Neben Calciumcarbonat, welches das bekannteste Biomineral in der belebten Natur darstellt, ist Calciumoxalat das pflanzliche Analogon dazu. Calciumoxalat in verschiedenen Morphologien spielt in der Pflanzenwelt eine wichtige Rolle, u.a. als Strukturkomponente zur mechanischen Stabilisierung, als Mineralspeicher, zur Bindung von atmosphärischem CO_2 , und als Schutz vor Fressfeinden. Am prominentesten hierbei sind die Raphide, elongierte spitze Kristalle, welche in den Vacuolen von Kristall-bildenden Ideoblasten mittels Ca^{2+} -bindenden Matrix-Proteinen gebildet werden und entweder zu Bündeln organisiert oder einzeln vorliegen. (91) (92) (93) (94) Des Weiteren existieren aber auch noch andere Morphologien in Pflanzen. Einen guten Überblick zu diesem Thema liefert der Artikel von Franceschi und Horner. (95)

Calciumoxalat existiert in drei unterschiedlich hydratisierten Formen, dem monoklinen Calciumoxalat-Monohydrat (COM, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Whewellit), dem tetragonalen Dihydrat (COD, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Weddellit) und dem triklinen Trihydrat (COT, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Caoxit). Physiologisch bedeutsam sind die ersten beiden. Der Whewellit, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, kristallisiert in der Raumgruppe $P2_1/c$ im monoklinen Kristallsystem mit den Zellparametern $a = 6.290$, $b = 14.583$, $c = 10.116 \text{ \AA}$, $\beta = 109.46^\circ$, während der Weddellit, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot (2+x)\text{H}_2\text{O}$, $x \leq 0.5$, in der Raumgruppe $I4/m$ im tetragonalen Kristallsystem mit den Parametern $a = 12.371$, $c = 7.357 \text{ \AA}$ kristallisiert (Abb.10). (96) Thermodynamisch stabil ist vor allem COM, während COD synthetisch nur durch Stabilisierung mit anorganischen und organischen Substanzen erhalten werden kann. Böhner et al. konnten erst kürzlich mit Hilfe einer Flusszelle COD außerhalb des thermodynamischen Gleichgewichts durch

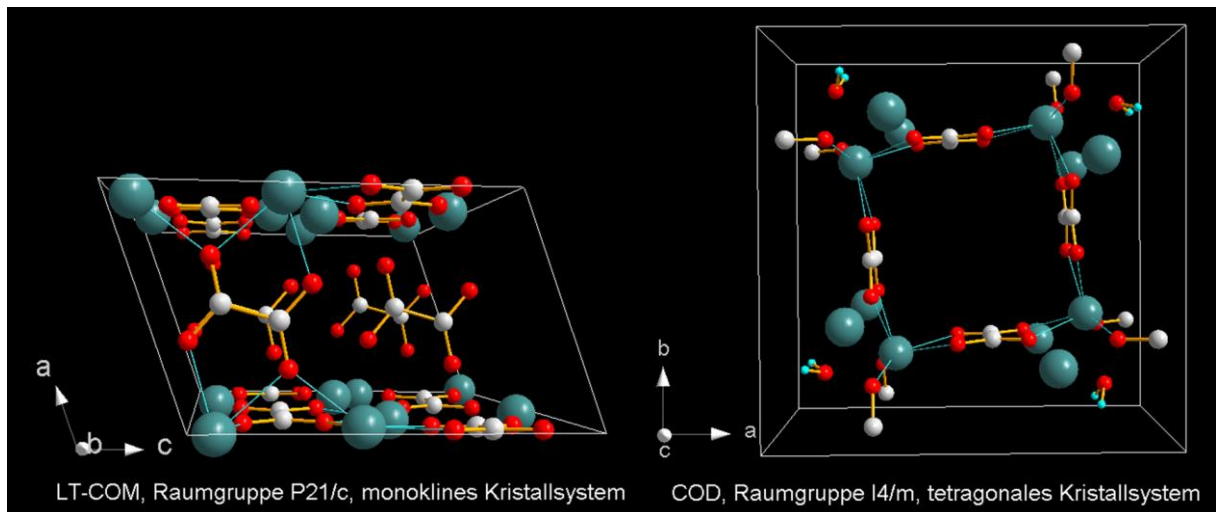


Abb. 10 Kristallstrukturen von Whewellit (COM) (97) und Weddellit (COD) (96), bearbeitet mit *Diamond 3.2*, zur Übersichtlichkeit wurde das Kristallwasser in der Darstellung entfernt

einen Konzentrationsgradienten stabilisieren und die zwei unterschiedlichen Polymorphe orts aufgelöst mittels Raman-Spektroskopie nachweisen. (98) In Bezug auf die Polymorphselektivität von COD gegenüber COM spielen säurereiche Proteine im Harn eine wichtige Rolle. (99) (100) (101) Neben der Inhibierung der Nukleation und des Wachstums von Kristallen können die anionischen Proteine allerdings auch das Gegenteil bewirken. Gerade bei der Harnsteinbildung können die Carboxylatgruppen dieser Proteine, in einer bestimmten Konformation an Zellkompartimente angelagert, ähnlich zu Langmuir-Monolagen (siehe Kapitel 3) Nukleation von CaOx induzieren. (102) (103) Die ambivalenten Eigenschaften der Polyelektrolyte lassen sich dadurch erklären, dass diese zum einen als Ionenschwamm agieren und somit durch hohe lokale Übersättigung Nukleation induzieren, zum anderen aber die Keime

am weiteren Wachstum durch Oberflächenadsorption hindern können. Analog dazu ist auch das Kristallwachstum betroffen. Während die Adsorption von Additiven an Wachstumskanten immer inhibierend wirkt, kann die Adsorption an Grenzflächen neben einer Inhibierung auch wachstumsfördernd durch Ausbildung einer neuen Wachstumsstufe wie z.B. beim Perlucin-Protein wirken. (43) (17) In einer umfassenden Untersuchung zur Polymorph- und Morphologiekontrolle von CaOx durch PAA in Analogie zu säurehaltigen Proteinen konnten Kniep et al. eine Phasenselektion von COD gegenüber der thermodynamisch stabilen COM-Phase in Übereinstimmung mit der Ostwald'schen Phasenregel aufzeigen. Dabei wird die Morphologie der COD-Kristalle in Abhängigkeit von der PAA-Konzentration durch Adsorption auf die (100)-Fläche beeinflusst, während die (101)-Fläche unberührt blieb. Durch die stabilisierten (100)-Flächen und die schnell wachsenden (101)-Flächen ändert sich die Morphologie von tetragonalen Bipyramiden zu entlang der [001]-Richtung elongierten bipyramidalen Prismen mit dominierenden {100}-Prismenflächen. (102) Die Autoren konnten eine Karte zu den drei Hydratationszuständen und Morphologien in Abhängigkeit vom [CaOx]/[PAA]-Konzentrationsverhältnis und vom pH-Wert erstellen. Auf diese soll später noch Bezug genommen werden. Chien et al. konnten eine durch die Poly-Asp-Sequenz des Harnproteins Osteopontin induzierte Stabilisierung der prismatischen {110}-Flächen beobachten und damit eine analoge Elongation der COD-Kristalle entlang der c-Achse unter gleichzeitigem Verschwinden der ursprünglich stabilen {101}-Flächen. (104) Diese Resultate verdeutlichen die analoge Wirkung von synthetischen Polyelektrolyten und natürlichen sauren Peptiden. Beide stabilisieren die zur c-Achse parallelen Flächen von COD. Für die im Folgenden beschriebenen Kristallisationen von CaOx in den Membranporen wurde neben PAA auch Glu-tag Silicatein- α als Additiv verwendet, welches, wie oben beschrieben, ein Kompartiment-aktives Protein ist und mit CaCO_3 zusammen flexible Biomineral-Kompositstäbchen mit erstaunlichen mechanischen Eigenschaften bildet. (105) Der Einfluss dieser beiden Additive auf die Phase von CaOx in den Membrankompartimenten in Bezug auf Referenzproben wurde mittels μ -Raman-Spektroskopie untersucht. Zunächst sollen jedoch die Ergebnisse für CaCO_3 mit PAA als Additiv vorgestellt werden.

1.5 Experimentaltteil

1.5.1 Verwendete Materialien

Im Folgenden sind die verwendeten Chemikalien aufgelistet. Diese wurden ohne weitere Aufreinigung verwendet (Tabelle 1).

Tabelle 1

Chemikalie	Formel	Reinheit	Hersteller
Calciumchlorid-Maßlg.	CaCl ₂	Volumetrisch	Sigma Aldrich
Natriumcarbonat	Na ₂ CO ₃	99.95%	Acros
Natriumoxalat	Na ₂ C ₂ O ₄	≥ 99.5%	Sigma Aldrich
Ammoniumcarbonat	(NH ₄) ₂ CO ₃	ACS, ≥ 30% NH ₃	Sigma Aldrich
Natriumhydroxid	NaOH		
Poly(acrylsäure)	(C ₃ H ₄ O ₂) _n n ~ 25	-	Sigma Aldrich
Chloroform	CHCl ₃		VWR
Ethanol	EtOH	≥ 99.8%	Sigma Aldrich

Tabelle 2

Membrantyp	Hersteller	Material	Porendurchmesser	Membrandicke
PC-TE	Sartorius	Poly(carbonat)	0.4 µm	~ 23-27 µm
AAO	Whatman	Aluminiumoxid	0.2 µm	-
	SmartMembranes	Aluminiumoxid	0.4 µm	100 µm

Die Fällungen wurden mit der Doppeldiffusionsmethode in einem U-Rohr durchgeführt (Abb.11). Dabei wurden verschiedene Membrantypen verwendet (Tabelle 2). Die hydrophilen PC-TE Membrane wurden von der Firma Sartorius bezogen und sind nach der „Track-Etch“-Technologie durch Beschießen mit hochenergetischen Ionen hergestellt worden. Dadurch kommt die uniforme Kapillarporenstruktur zustande (Abb.11c). Laut Hersteller sind diese hochreinen Poly(carbonat)-Membrane nicht weiter funktionalisiert worden. Es wird deshalb davon ausgegangen, dass die Oberfläche der chemischen Zusammensetzung wie in Abb.11 (c) gezeigt entspricht. Die Membrane der Firma Whatman aus anodisiertem Aluminiumoxid (AAO) wurden elektrochemisch hergestellt und sind laut Hersteller ebenfalls hydrophil und

nicht mit Tensiden kontaminiert. Durch den Herstellungsprozess bedingt besitzen die Membrane eine wabenartige Anordnung der Poren. Ebenfalls wurden AAO-Membrane der Firma SmartMembranes verwendet, deren Poren auf 400 nm aufgeweitet wurden und die eine Membranstärke von 100 μm besitzen. Mittels dieser Membrane sollten Biomineralkomposit-Stäbchen mit einem ausreichend großen Aspektverhältnis synthetisiert werden, um mit Hilfe eines Mikromanipulators deren mechanische Eigenschaften zu bestimmen.

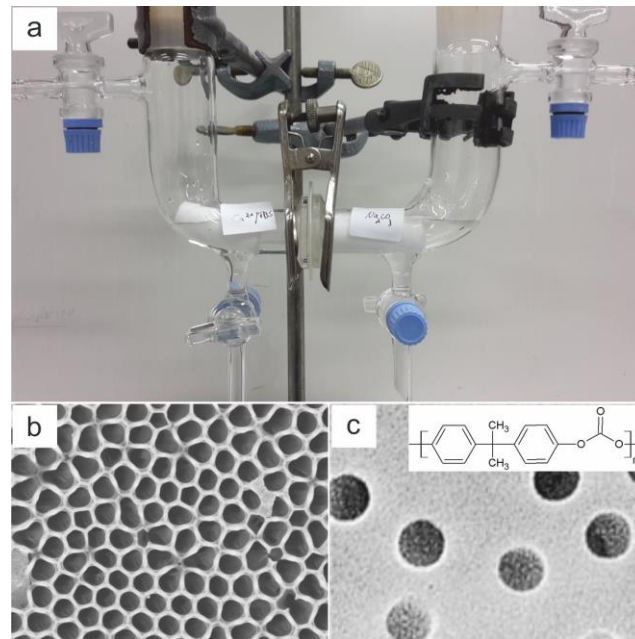


Abb. 11 (a) Zwei U-Rohrhälften mit einer eingespannten Membran in der Mitte wie im Experiment verwendet, (b) AAO-Membran der Firma smart membranes und (c) PC-track etch Membran der Firma Sartorius

Der Vorteil der PC-Membrane ist deren einfache Auflösung in Dichlormethan oder Chloroform, wodurch das innerporöse Biomineral keinen Auflösungs- und Rekristallisationsmechanismen unterworfen wird. Dagegen lässt sich die Aluminiumoxidmembran nur unter basischen Bedingungen unter Einwirkung von Ultraschall (US) weglösen, die Dauer der US-Behandlung richtet sich dabei auch nach der Dicke der Membran. Der Vorteil an diesen ist die größere Porenlänge, wodurch Biomineralkompositkristalle mit längerer stäbchenförmiger Morphologie erhalten werden können.

1.5.2 Allgemeine Synthesevorschrift

In einer typischen Reaktion für die Fällung von **Calciumcarbonat** wurde die Membran zunächst in Millipore-Wasser entgast, bevor das U-Rohr auf der einen Seite mit einer 8 mM CaCl_2 -Lösung, die 10 $\mu\text{g/mL}$ (0.14 mM bezogen auf die Carboxylatgruppen; $[\text{Ca}^{2+}]/[-\text{CO}_2^-] = 57$) Poly(acrylsäure) (PAA, $M_w = 1800$ g/mol) enthielt, befüllt

wurde und auf der anderen Seite mit einer 8 mM Na₂CO₃-Lösung. Die Kristallisationsdauer betrug jeweils 18 h. Danach wurden die PC-TE-Membrane kurz mit Ethanol im US-Bad behandelt (1 min), um anhaftende Oberflächenkristalle abzulösen. Die ethanolische Dispersion wurde verworfen und die Membran erneut mit EtOH gewaschen. Nach anschließendem Auflösen der Membran in 20 mL CHCl₃ und Zentrifugieren (10 min@9000 U/min) wurde das Lösungsmittel bis auf einen kleinen Rest abdekantiert und die Biomineraldispersion auf einen gereinigten Glasträger zur weiteren Untersuchung pipettiert. Dieser wurde vorsichtig mehrmals mit CHCl₃ abgespült, um restliches Polymer und Membranbestandteile herunterzuwaschen.

Für die AAO-Membrane wurde bis auf den Auflösungsprozess analog verfahren. Diese wurden zunächst zweimal für je 1 min in Ethanol im US-Bad behandelt, bis im Lösungsmittel keine Kristallite mehr zu erkennen waren. Danach wurden die Membrane kurz mit Millipore-Wasser abgespült und für 15 min in 30 mL konzentrierter Natronlauge (pH ~ 13) im US-Bad behandelt, sodass keine Membranbestandteile mehr sichtbar waren. Die Dispersion wurde für 30 min@9000 U/min zentrifugiert und der Rückstand zunächst in Millipore-Wasser, dann in Ethanol aufgenommen, wobei zwischendurch jeweils für 30 min zentrifugiert wurde. Danach wurde mit der Dispersion analog zu oben verfahren, jedoch ohne weitere Waschstritte.

Die **Calciumoxalat**-Stäbchen wurden analog zur oben angegebenen Vorschrift synthetisiert, außer dass je 20 mL einer 10 mM CaCl₂ (50 µg/mL PAA, 0.7 mM Carboxylatgruppen, [Ca²⁺]/[-CO₂⁻] = 14) und einer 10 mM Na₂C₂O₄-Lösung verwendet wurden. Die Reaktionszeit wurde dabei von 4 h über 14 h zu 24 h variiert. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. In einigen Fällen wurden von der Membran vor der Auflösung Licht/Lasermikroskopische Aufnahmen von beiden Seiten gemacht. Zur Synthese der CaOx/Silicatein-Kompositkristalle wurde eine 10 mM Ca²⁺-Lösung mit ~ 33 µg/mL Glu-tag Silicatein-Lösung in 25 mM Tris-Puffer verwendet.

Charakterisierung: Die Partikel wurden mittels konfokaler Licht/Lasermikroskopie, Rasterelektronen- und Transmissionselektronenmikroskopie und konfokaler Ramanmikroskopie untersucht. Für die konfokalen Mikroskope wurde die Probe wie oben beschrieben präpariert, für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurde der Glasträger mit einer 7.5 nm dicken Gold-Schicht versehen, für die TEM Proben wurden zwei Tropfen einer ethanolischen Partikeldispersion auf ein Kohlenstoff-beschichtetes Kupfergitter (Plano, Wetzlar) pipettiert.

1.6 Ergebnisse und Diskussion

1.6.1 Biomineralkomposit-Stäbchen

Die Kristallisation von **Calciumcarbonat** in den PC-TE-Membranen wurde analog zur Vorschrift von Meldrum et al. (85) mittels einer PAA-stabilisierten PILP-Phase durchgeführt. Allerdings wurden im Unterschied dazu PC-TE-Membrane der Firma Sartorius mit 400 nm

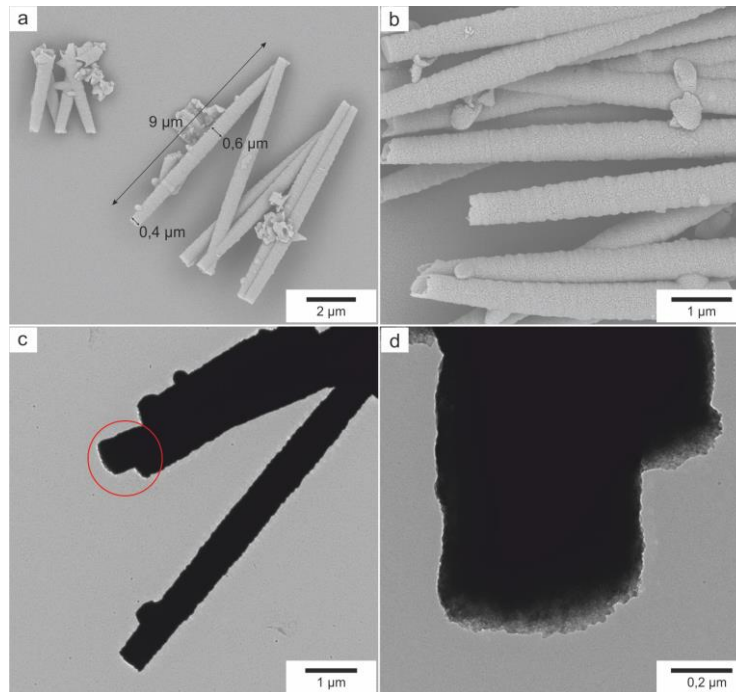


Abb. 12 (a-b) SEM-Aufnahmen der 9 μm langen Calcit-Nanostäbchen, welche eine raue Oberfläche besitzen, diese ist auch auf der TEM-Aufnahme (c) zu erkennen, (d) die Vergrößerung des in (c) markierten Bereichs verdeutlicht den Aufbau der Stäbchen aus Nanokristalliten

Poren unter sonst identischen Bedingungen verwendet, um den Einfluss des Porendurchmessers auf die Struktur und Morphologie die Minerals zu untersuchen. Wie man auf den SEM- und TEM-Aufnahmen erkennen kann, bildeten sich hier Stäbchen des Minerals mit dem Durchmesser und der Länge der Membranporen. Diese Aufnahmen beweisen das vollständige Ausfüllen der Poren durch die PILP-Phase. Die Stäbchen wurden mittels μ -Raman-Spektroskopie an den in Abb.13 in der lichtmikroskopischen Aufnahme markierten Partikelaggregaten charakterisiert. Die beobachteten Raman-Banden bei 155 und 281 cm^{-1} (Gittermoden), 712 cm^{-1} (ν_4 -Deformationsschwingung, E_g) und bei 1084 cm^{-1} (ν_1 -Valenzschwingung, A_{1g}) und 1436 cm^{-1} (E_g) sind charakteristisch für Calcit. (106) Andere Polymorphe konnten nicht identifiziert werden.

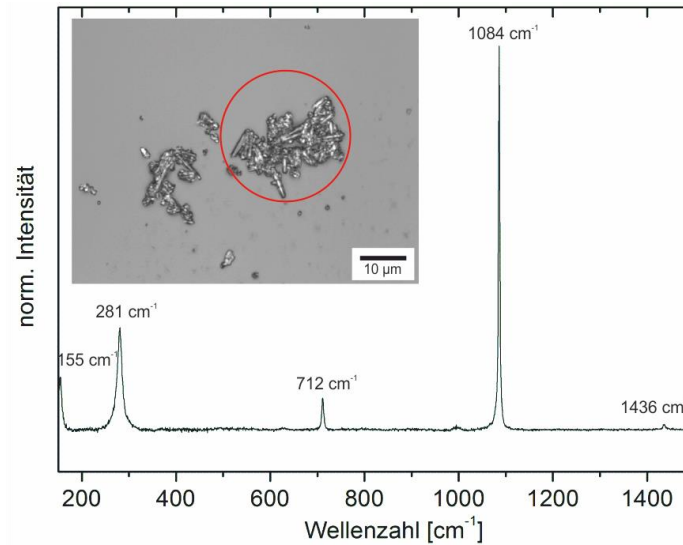


Abb. 13 μ -Raman-Spektrum der in der lichtmikroskopischen Aufnahme markierten Aggregate der Calcit-Nanostäbchen

Wie man aus weiteren SEM- und TEM- Aufnahmen der Nanostäbchen erkennen kann (Abb.12b und Abb.14a-b), sind die Stäbchen im Innern nicht komplett durchmineralisiert, sondern besitzen eher die Morphologie von Nanoröhren mit einer polykristallinen Struktur, bestehend aus 50-100 nm großen Calcit-Nanopartikeln. Dieses Resultat lässt darauf schließen, dass die PILP-Phase zunächst die Membranwände benetzt. Gower et al. konnten für Collagen-Fibrillen eine ähnliche Benetzung durch die PILP-Phase mittels Kapillarkräften zeigen. (107) Die amorph stabilisierte Phase transferiert in die polykristalline Calcit-Phase. Ein Indiz für den PILP-Mechanismus ist dabei die nanopartikuläre Strukturierung der kristallinen Phase anstelle von Calcit-Rhomboedern ähnlich wie bei Gower. Die Form der Calcit-Nanopartikel entspricht der von ACC oder PILP-Partikeln, (108) welche sich entlang des Substrates ausgerichtet haben und durch den Kontakt zur Lösung rekristallisiert sind. Neben einer Substrat-induzierten Ausrichtung der Nanopartikel ist zudem auch noch eine molekulare Selbstanordnung ähnlich wie bei Mesokristallen denkbar. Im Vergleich zu der Arbeit von Meldrum bedingt der größere Porendurchmesser einen besseren Kontakt zur umgebenden Lösung, wodurch polynukleare Rekristallisation begünstigt wird. Im Gegensatz zu den Calcit-Stäbchen, die aus polykristallinem Material bestehen und keine für Calcit typischen $\{104\}$ -Flächen zeigen, ergibt sich für das Biomaterial **Calciumoxalat** ein etwas anderes Bild. Wie bereits oben erwähnt, wird die Morphologie von COD durch das Additiv PAA durch eine selektive Stabilisierung der

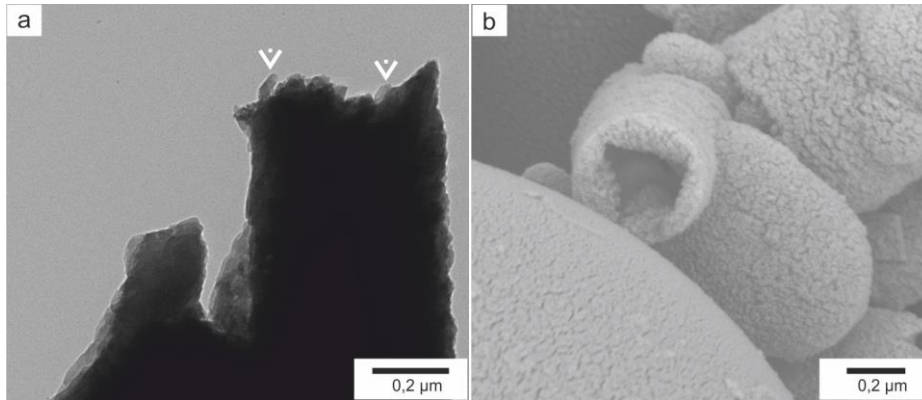


Abb. 14 (a) TEM-Aufnahme des Endes eines Stäbchens, zu erkennen sind 50-100 nm anisotrope Calcit-Nanopartikel (weiße Markierungen); (b) SEM-Aufnahme eines Calcit-Stäbchens mit Blick entlang der Wachstumsrichtung, die Stäbchen sind innen hohl und besitzen eine nanopartikuläre Strukturierung

{100}-Flächen beeinflusst, sodass sich hier die Frage stellt, welcher der beiden Kristallmodifizierenden Einflüsse, das Additiv und/oder die Membran, den dominierenden Einfluss hat. Dazu wurden mehrere Kristallisationen ohne und mit PAA und des Weiteren mit dem Protein Silicatein- α durchgeführt. Zudem ist die Doppeldiffusionsmethode für die Klärung dieser Fragestellung in besonderem Maße geeignet, da sie die Analyse der auf der Membranoberfläche unter verschiedenen Bedingungen heterogen abgeschiedenen Kristallite ermöglicht, und damit Rückschlüsse auf einen eventuellen Konzentrationsgradienten seitens des Additives zwischen den beiden Hälften erlaubt. Zum andern erhält man den direkten Einfluss der Mikroumgebung auf die Kristallisation. Die in Abb.15 (a-b) mit einem Licht-Lasermikroskop aufgenommenen Darstellungen der beiden Membranseiten verdeutlichen den Einfluss der in einem auf die Carboxylatgruppen des Polymers normierten Konzentrationsverhältnis von $[Ca^{2+}]/[-CO_2^-] = 14$ eingesetzten PAA. Allerdings wurden von den beiden Seiten des U-Rohrs keine weiteren Konzentrationsbestimmungen nach 24 h Reaktionszeit in Bezug auf die reagierenden Spezies gemacht, sodass die Aussagen sich eher qualitativ auf die Morphologien der entstandenen Kristallite stützen. Die Anwesenheit dieser auf beiden Membranseiten zeigt allerdings, dass eine vollständige Diffusion der mineralischen Spezies durch die Poren stattgefunden hat. Die Anzahl und die Morphologie der CaOx-Kristallite wird durch die PAA wie erwartet beeinflusst (Abb.15b). Viele der Kristallite sind entlang der mutmaßlichen c-Achse elongiert, was auf die {100}-Flächenstabilisierung durch PAA zurückzuführen ist. Alle auf dieser Seite gefundenen Morphologien entsprechen denen von Kniep et al. für COD bei unterschiedlichen PAA-Konzentrationen erhaltenen Kristallen.

(102)

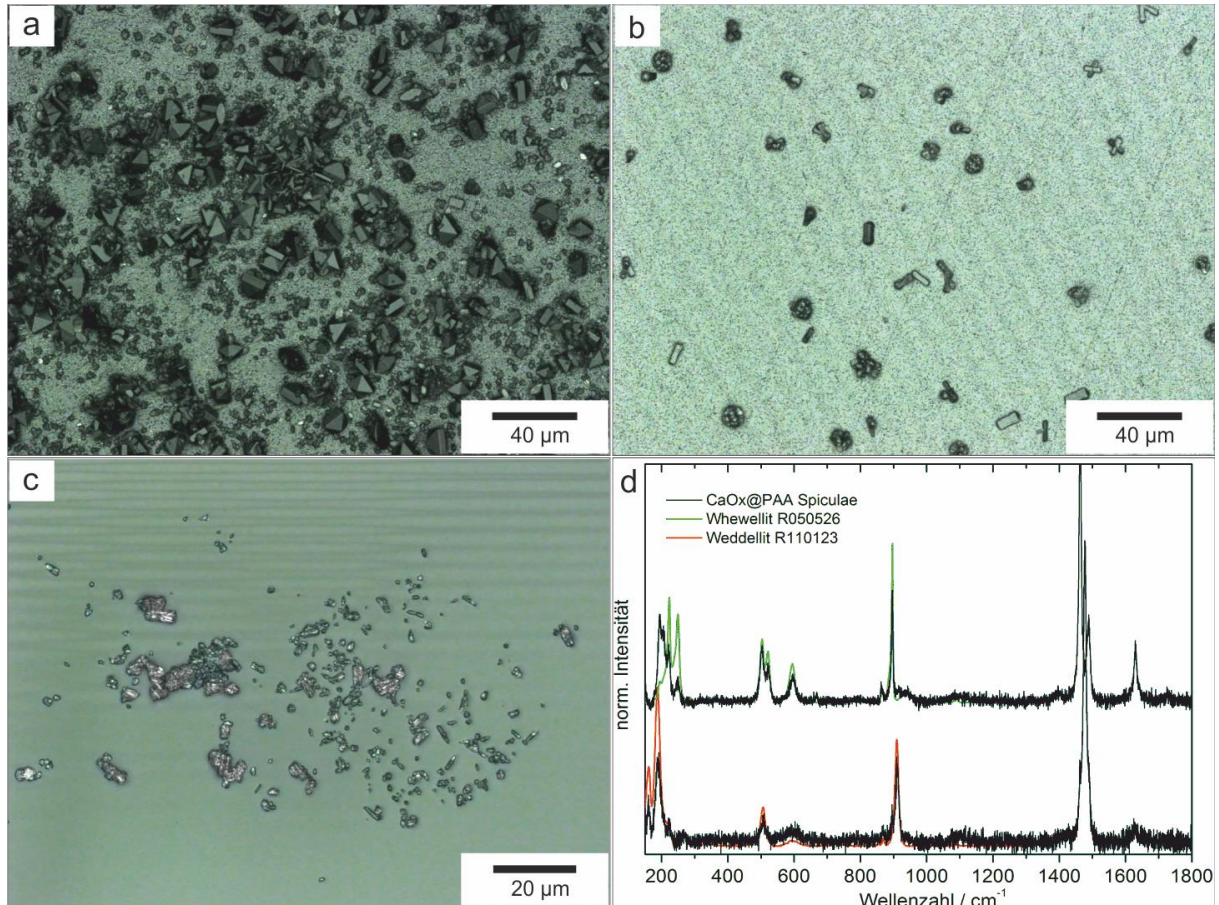


Abb. 15 (a-b) Lichtmikroskopische Aufnahmen beider PC-TE-Membranseiten der CaOx-Kristallisation, zu erkennen ist der Einfluss der PAA auf die Anzahl und Morphologie der CaOx-Kristallite (b), (c) Poreninhalt nach Auflösen der Membran, welcher mittels μ -Raman-Spektroskopie charakterisiert wurde, (d) Polymorphbestimmung mittels μ -Raman, sowohl COM (grüne Linie) als auch COD (rote Linie) konnten charakterisiert werden, die Referenzen wurden der *rruff*-Datenbank entnommen und sind mit dem entsprechenden Eintrag gekennzeichnet (109)

Diese bilden das volle Spektrum von den bipyramidalen Kristallen mit dominierenden $\{100\}$ prismatischen Flächen zu hantelförmigen Morphologien ab. Zudem sind die Anzahl und die Größe der Kristallite im Vergleich zu denen der $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -Lösungsseite (Abb.15a) drastisch reduziert. Letztere weisen die für COD typische tetragonale bipyramidale Form auf, welche durch geringe Mengen von PAA in Lösung stabilisiert wird. Vergleicht man die für die bei Kniep et al. benötigte Menge zur Stabilisierung dieser Kristalle notwendige Menge an PAA ($[\text{Ca}^{2+}]/[-\text{CO}_2^-] = 10 - 20$) mit der hier verwendeten ($[\text{Ca}^{2+}]/[-\text{CO}_2^-] = 14$), lässt sich daraus schließen, dass immer noch ein gewisser Anteil an Additiv durch die Poren hindurch auf die $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -Lösungsseite diffundiert. Dennoch liegt offensichtlich ein Konzentrationsgradient zwischen den beiden U-Rohr-Hälften vor. Im Gegensatz zu den PAA-stabilisierten COD-Kristallen finden sich in Referenzproben hauptsächlich COM-Kristalle, welche oft als Kontakt- oder Durchdringungszwillinge vorliegen. Eine ausführliche Beschreibung der

Struktur und Morphologie von Whewellit (COM)-Kristallen findet sich in der Arbeit von Millan. (110) Die Mikrokristalle aus den Membranporen wurden mittels μ -Raman-Spektroskopie untersucht. Mithilfe dieser Methode lassen sich besonders geringe Probenmengen mit einer Ortsauflösung im Submikrometerbereich zuverlässig charakterisieren. Einen anschaulichen Überblick über die Möglichkeiten der μ -Raman-Spektroskopie und deren Verwendung bei biologischen Proben liefert der Artikel von Schmitt und Popp. (111) Wie man aus den Raman-Spektren in Abb.15 (d) der in Abb. 15 (c) gezeigten CaOx-Nanostäbchenaggregate erkennen kann, konnten interessanterweise sowohl das Mono- als auch das Dihydrat identifiziert werden. Die Raman-Spektren wurden im Wellenzahlenbereich von $\nu = 150$ - 1800 cm^{-1} mit einem HeNe-Laser mit einer Anregungswellenlänge von 632.8 nm aufgenommen. Dieser Bereich deckt alle Schwingungen im Oxalat-Anion ab. Für das planare Oxalat-Ion wird eine lokale D_{2h} -Symmetrie angenommen, welche sich aber durch Faktorgruppen-Analyse zu einer C_1 -Lagesymmetrie und einer C_{2h} -Faktorgruppensymmetrie reduziert. Für eine ausführliche Darstellung der Schwingungsbanden von COM sei auf die Arbeit von Shippey verwiesen. (112) Die beiden Polymorphe des Calciumoxalats können durch eine unterschiedliche Aufspaltung der Banden mittels Raman unterschieden werden. Neben dem Dublett bei 503 und 521 cm^{-1} für die symmetrische Deformationsschwingung $\delta(\text{CO}_2)$, dem um 896 cm^{-1} angesiedelten Triplet für die C-C Valenzschwingung $\nu(\text{C-C})$ ist besonders das Dublett bei 1463 und 1489 cm^{-1} für die symmetrischen Valenzschwingungen $\nu(\text{CO}_2)$ charakteristisch für COM. Die Dubletts und das Triplet liegen bei COD jeweils als Singulett bei 506 cm^{-1} , 910 cm^{-1} bzw. 1477 cm^{-1} vor. Die asymmetrische Valenzschwingung $\nu(\text{CO}_2)$ bei 1630 cm^{-1} findet sich bei beiden Polymorphen (Abb.15 d). (113) (114) Für die Raman-Analyse der anisotropen Mikrokristallite wurde insgesamt an 10 verschiedenen Stellen gemessen. Nur in ca. 20 % der Fälle konnte COD als einzige Phase gemessen werden. Ein Großteil der Stäbchen bestand aus COM. Daher stellt sich die Frage, wie es trotz der relativ hohen PAA-Konzentration zu diesem beträchtlichen Anteil an COM kommt, besonders da die auf der intakten Membran nukleierten Kristalle eindeutig die für COD typische Morphologie besitzen. Unter gleichen Bedingungen, jedoch ohne Additiv, durchgeführte Kristallisationen ergaben allerdings ausschließlich COM als identifizierte Phase. Zur Aufklärung des Wachstums der Kristalle wurden diese mittels eines fokussierten Ionenstrahls in der Mitte aufgeschnitten (Abb.16). Aus den SEM-Aufnahmen des FIB-Schnitts (Abb.16c-d) der Kristalle, die aus 10 mM Lösungen mit $50 \text{ }\mu\text{g/mL}$ PAA für 14 h kristallisiert wurden, kann man folgende Schlüsse ziehen. Zum einen scheinen die Mikrostäbchen vollständig durchkristallisiert zu sein,

wie der FIB-Schnitt (Abb.16d) und die abgebrochenen Reste auf dem Oberflächenkristall (Abb. 16c) belegen. Weiterhin lassen sich an den Enden der Stäbchen Facetten der mutmaßlichen COM-Phase erkennen. Dennoch, wie der Querschnitt belegt, besitzen die Stäbchen eine den Poren entsprechende zylindrische Morphologie.

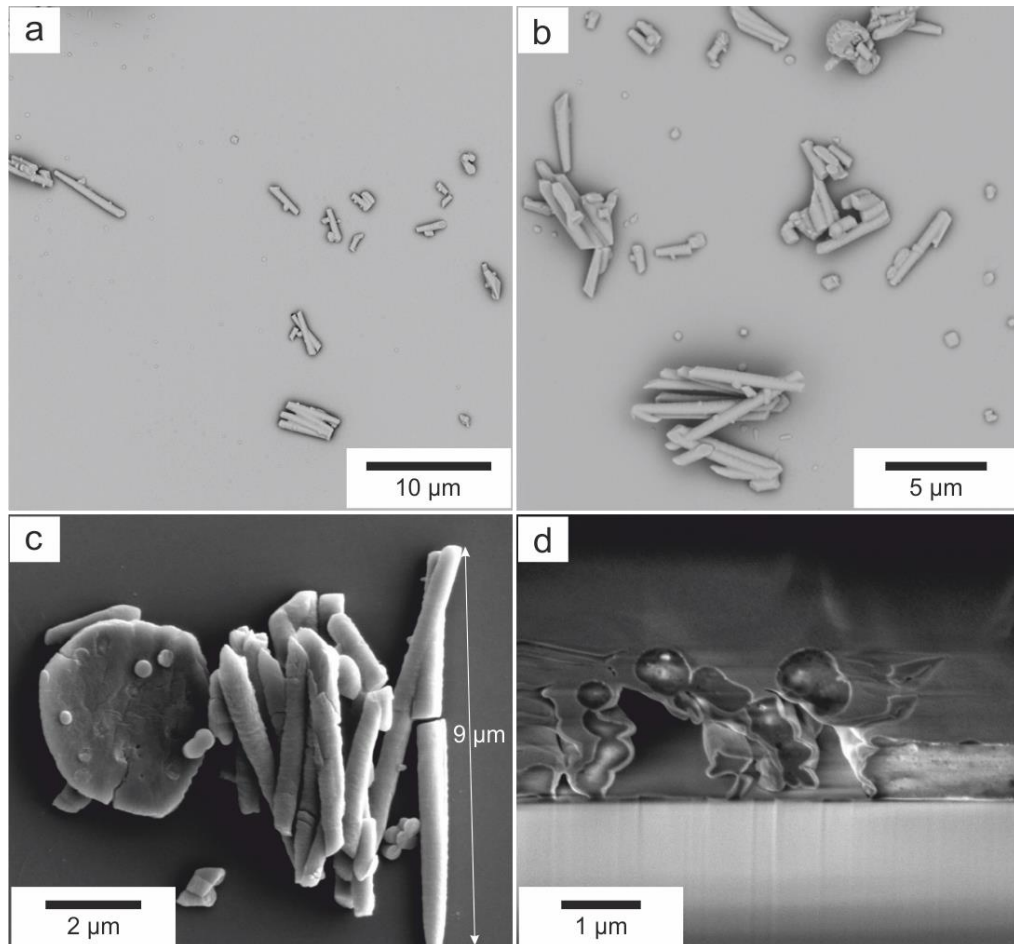


Abb. 16 (a-b) SEM-Aufnahmen der CaOx-Mikrokristalle (aus 10 mM Lösungen, 50 µg/mL PAA, 14 h Reaktionszeit), (c) SEM-Aufnahme der CaOx-Mikrokristalle vor und (d) nach dem FIB-Schnitt, die Kristalle wurden auf dem Substrat zuvor mit einer Pt-Schicht fixiert, der Oberflächenkristall links in Abb. (c) befindet sich in (d) unten rechts

Es lässt sich daher vermuten, dass die Mikrostäbchen von einkristalliner Natur sind. Der Oberflächenkristall lässt sich aber nicht mit den klassischen Morphologien der COM und COD Phase in Einklang bringen und ist durch das Additiv beeinflusst. Über den Diffusionsmechanismus und die Phasenverteilung lässt sich daher nur spekulieren, dass diese durch den Konzentrationsgradienten der PAA determiniert sind. Diese These wird durch die Raman-Spektren untermauert, da sich oft beide Polymorphe zu unterschiedlichen Anteilen nachweisen lassen. Die Mikrokristallfacetten an den Enden stammen wahrscheinlich von der

Na₂C₂O₄-Seite, da COM die thermodynamisch stabile Morphologie darstellt und durch die Abwesenheit von PAA die begünstigte Phase darstellt. Einen Hinweis darauf geben die SEM-

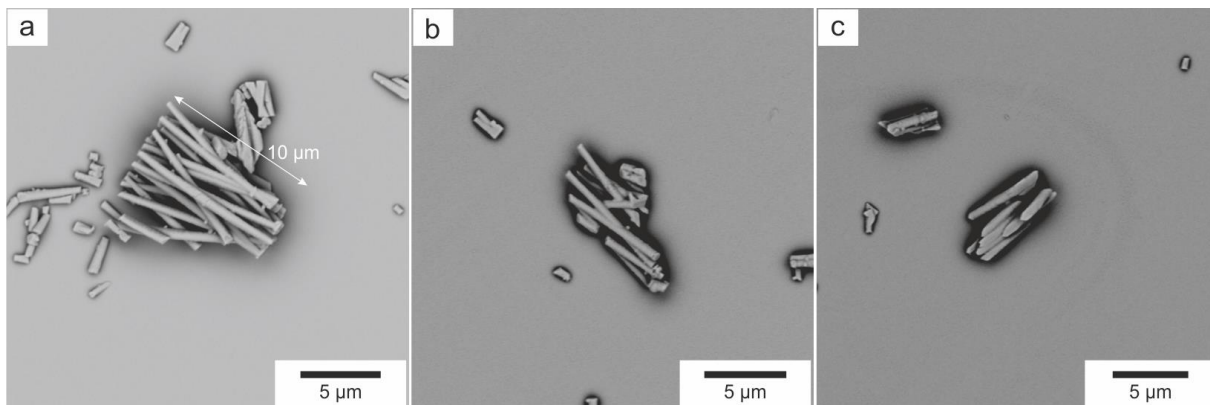


Abb. 17 SEM-Aufnahmen der COM-Referenzkristalle ohne PAA (10 mM Lösungen, Reaktionszeit 14 h)

aufnahmen der CaOx-Referenzkristalle, die ohne den Zusatz von PAA aus sonst identischen Bedingungen heraus synthetisiert wurden und deren Phase mittels Raman eindeutig der von COM zugeordnet werden konnte. Interessant ist daran vor allem, dass die Poren auch ohne den Zusatz einer PILP-Phasenstabilisierung komplett ausgefüllt werden und sich entsprechend der Porenlänge bis zu 10 µm Länge Kristalle bilden (Abb.17a). Diese sind an den Enden wieder durch Facetten der COM-Phase terminiert (Abb.17c). Für den Mechanismus muss aufgrund der Abwesenheit von Additiven eine reine Ionendiffusion ohne eine intermediäre PILP-Phase angenommen werden. Der Einfluss der Membran scheint sich also bei diesem Biomineral allein auf die Morphologie auszuwirken und nicht auf die Stabilisierung einer metastabilen Phase. Dieses wird, wenn auch in diesem Fall nur in schwachem Ausmaße, durch den Polyelektrolyten determiniert. Interessant ist auch der Vergleich zu CaCO₃, bei dem ein viel niedrigerer PAA-Anteil ausreicht (CaCO₃: $[Ca^{2+}]/[-CO_2^-] = 57$; CaOx: $[Ca^{2+}]/[-CO_2^-] = 14$), um den PILP-Mechanismus gegenüber einem Ionendifusionsmechanismus zu bevorzugen. Während PAA eines der gängigsten Additive zur Kristallisationskontrolle darstellt, wurde das System auch in Bezug auf ein komplexes Protein, das Silicatein- α , untersucht. Ein entscheidender Vorteil, neben einer in Bezug auf ein bioinspiriertes System realistischeren Versuchsdurchführung, ist die Möglichkeit der anschließenden Antikörperanfärbung, mit der das Protein auf der Mineraloberfläche nachgewiesen werden kann. Dazu wurde die 10 mM Ca²⁺-Lösung mit 33 µg/mL Glu-Silicatein- α in 25 mM Tris-Pufferlösung versetzt. Die SEM- und TEM-Aufnahmen (Abb.18a und c) zeigen zylindrische CaOx-Kristalle mit nanopartikulärer Strukturierung. Zudem sind die Enden nicht facettiert. Für die Bildung ist

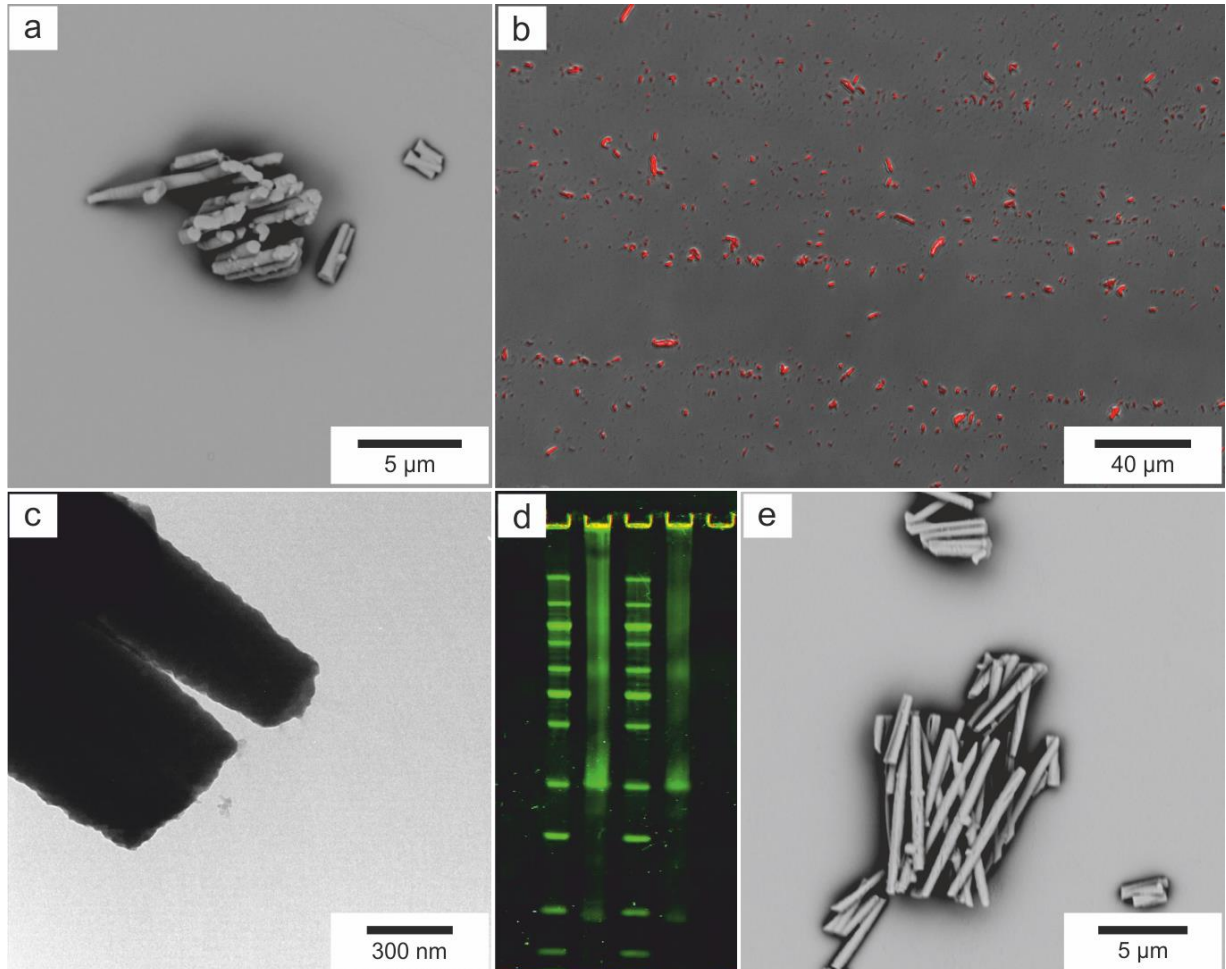


Abb. 18 (a) SEM-Aufnahme von CaOx-Partikelaggregaten mit Glu-Silicatein- α ($\sim 33 \mu\text{g/mL}$, 10 mM Ca^{2+} , 25 mM Tris), (b) Antikörperfärbung zeigt das Protein auf der Oberfläche der Kristalle, (c) die TEM-Aufnahme zeigt ebenfalls wie bei CaCO_3/PAA eine nanopartikuläre Strukturierung, (d) Western-Blot mit Fluoreszenzfärbung, die stark fluoreszierende Bande ganz rechts entspricht der 30 kDa Silicatein-Fraktion, (e) SEM-Aufnahme einer CaOx Referenzprobe (10 mM Ca^{2+} , 25 mM Tris)

somit ähnlich wie beim CaCO_3/PAA -System ein PILP-Mechanismus denkbar. Die SEM-Aufnahmen einer Referenzprobe einer 10 mM Ca^{2+} - in einer 25 mM Tris -Pufferlösung zeigen dagegen facettierte Kristalle (Abb.18e), zudem bestehen die Oberflächenkristalle (hier nicht gezeigt), aus verzwilligten COM-Einkristallen im Gegensatz zu Abb.16(c). Die Charakterisierung der CaOx/Silicatein-Kristalle mittels μ -Raman-Spektroskopie liefert ebenfalls wie bei PAA einen Anteil von knapp 20% COD, während der Rest aus COM besteht, die vergleichenden Ergebnisse finden sich nochmals in Abb.19. Das an der Phasenselektion beteiligte Silicatein ist dabei ähnlich wie PAA in der Lage, COD gegenüber COM zu stabilisieren und konnte durch eine Antikörperanfärbung (Abb.18b) auf der Oberfläche und mittels Western Blot in den aufgelösten Mineralkompositen nachgewiesen werden (Abb.18d).

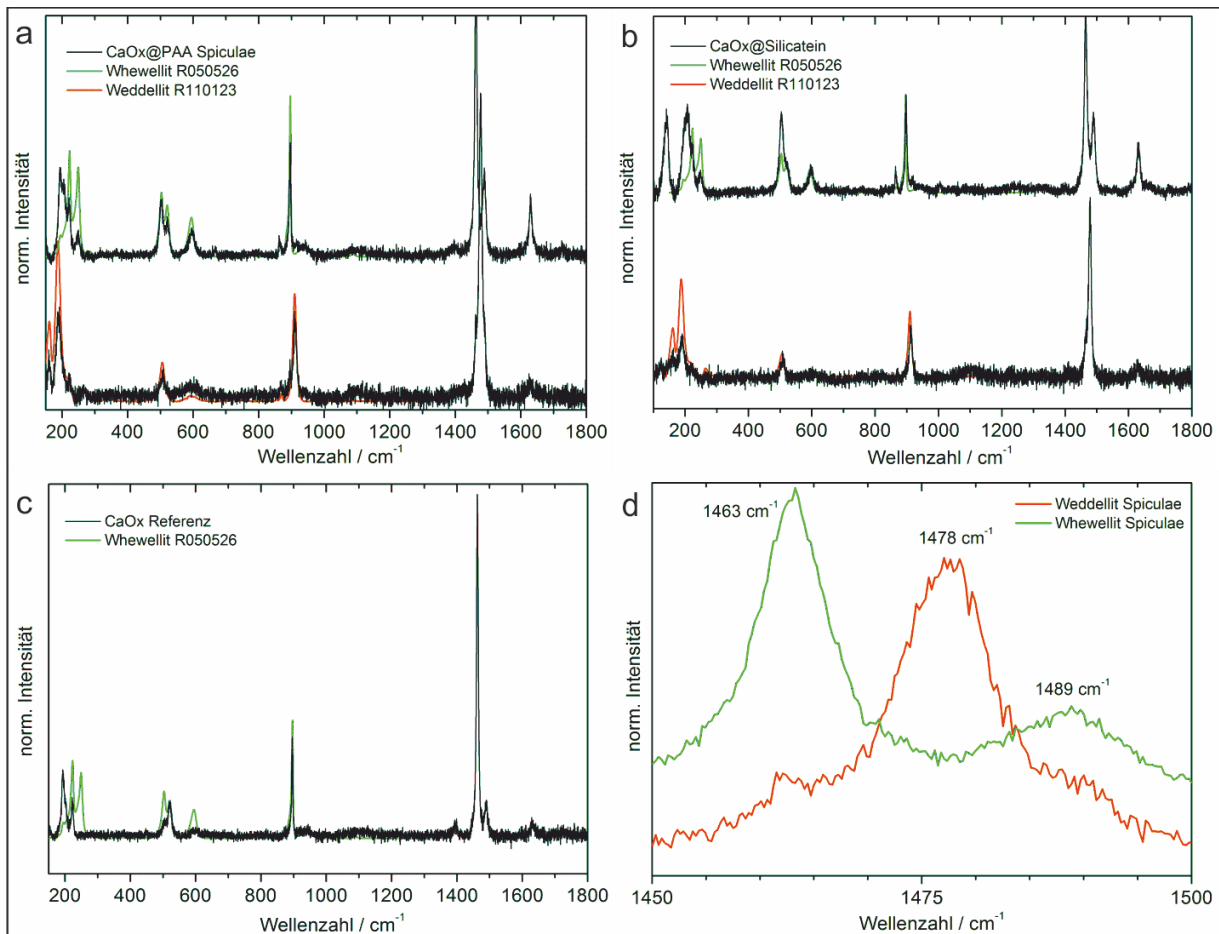


Abb. 19 Übersicht über die Ergebnisse der μ -Raman-Spektroskopie für CaOx/PAA (a), CaOx/Silicatein (b), beide Additive stabilisieren partiell ($\sim 20\%$) COD, während eine Referenzprobe nur COM ergibt (c), die charakteristische Aufspaltung des Singulets von COD (1478 cm^{-1}) zu einem Dublett bei COM ist nochmals vergrößert dargestellt (d); Anregung: HeNe-Laser bei 632.8 nm

Zusammenfassend sind PAA als auch das Silicatein in der Lage, die thermodynamisch metastabile Phase von CaOx partiell zu stabilisieren, wobei für Silicatein aufgrund der durchgeführten TEM-Aufnahmen ein PILP-Mechanismus zur Bildung der Stäbchen angenommen werden kann. Allerdings ist der Effekt für PAA bei CaOx unter Berücksichtigung der höheren Additivkonzentration im Vergleich zu CaCO_3 etwas geringer, da terminale Facetten auf einen durch die Membran morphologisch beeinflussten Einkristall deuten. TEM-Elektronenbeugungsdaten wie SAED entlang des Stäbchens könnten hier für weitere Klarheit sorgen. Für die Referenzproben dagegen kann ein Ionendifusionsmechanismus angenommen werden, der mittels Membransynthese CaOx-Kristalle mit definierter Morphologie erzeugt. Nach wie vor bleiben ein paar ungeklärte Fragen nach den genauen Diffusionsprozessen. Zum einen, wie die Kristalle in den Poren unter Ausschluss eines PILP-Mechanismus wachsen. Da die Stäbchen massiv sind und die Porenlänge ausfüllen, muss bis zum Schluss Ionendifusion gewährleistet sein. Dies geschieht entweder durch eine anfängliche amorphe Phase, oder durch

offene Nanoporen. Da ein heterogenes Nukleieren zunächst an den Membranwänden zu einer Verengung der Poren führt, steigt dadurch die Kapillarkraft weiter an. (115) Diese könnte die Triebkraft für ein nahezu komplettes Ausfüllen mit einer mineralischen Phase sein. Jedoch müssten hierzu noch weitere Untersuchungen angestellt werden, wie z.B. einer Verfolgung der Ionenkonzentrationen durch ionenselektive Elektroden auf beiden Seiten des U-Rohrs oder einer Dotierung mit fluoreszierenden Seltenerdmetall-Ionen. Ein Anfang dazu wurde schon mit Carboxylat-terminierten sphärischen Gold-Kolloiden anstelle der PAA als Additiv gemacht. Diese konnten auf beiden Seiten der Membran auf den Oberflächenkristallen nachgewiesen werden und eignen sich zum einen als optische Marker, als auch aufgrund des hohen Streukontrastes für elektronenmikroskopische Nachweise.

1.6.2 Silicatein- α induzierte Nanostrukturierung

In diesem Abschnitt soll ein interessanter Nebenaspekt der Doppeldiffusionsmethode betrachtet werden. Diese eignet sich nicht nur zur Kristallisation in Kapillaren, sondern scheint auch in Abhängigkeit der zugesetzten Additive nanostrukturierte Kompositkristalle bilden zu können. Ziel dieses Versuchs war es, basierend auf der Arbeit von Natalio et al., (105) flexible Calcit/Silicatein-Kompositstäbchen mit ausreichender Länge für mechanische Tests mittels eines Mikromanipulators zu erhalten. Dazu wurde eine zuvor entgaste und mit Millipore-Wasser gespülte AAO-Membran (SmartMembranes) mit einer Porenlänge von 100 μm und einem Porendurchmesser von 0.4 μm (Aspektverhältnis: 250) für zwei Tage in einer 100 $\mu\text{g/mL}$ konzentrierten Cys-Silicatein- α Lösung (25 mM Tris, pH = 7.5) inkubiert. Die Proteinslösung zusammen mit einer CaCl_2 -Lösung ($c(\text{Ca}^{2+}) = 10 \text{ mM}$) wurde mit der so präparierten Membran für 24 h mit der Na_2CO_3 -Lösung (10 mM) zur Kristallisation im U-Rohr gebracht. Lasermikroskopische Aufnahmen von beiden Seiten der Membran belegen eine einseitige Nukleation mit anisotropen Calcitkristallen (Abb.20a), während auf der gegenüberliegenden Seite kein Mineral zu erkennen ist (Abb.20b). Die SEM-Aufnahmen (Abb.21d) belegen, dass die Membranporen ebenfalls nicht mit einer mineralischen Phase gefüllt sind. Allerdings bildeten sich auf der Membranoberfläche anisotrope Calcit/Silicatein-Kompositkristalle, welche den hantelförmigen Kristallen von Kniep und Busch sehr ähneln. Eine weitere interessante Analogie besteht darin, dass auch letztere mittels einer Doppeldiffusionsmethode erhalten wurden, allerdings in einer makroskopischen Gelatinematrix. (116) Für die einseitige

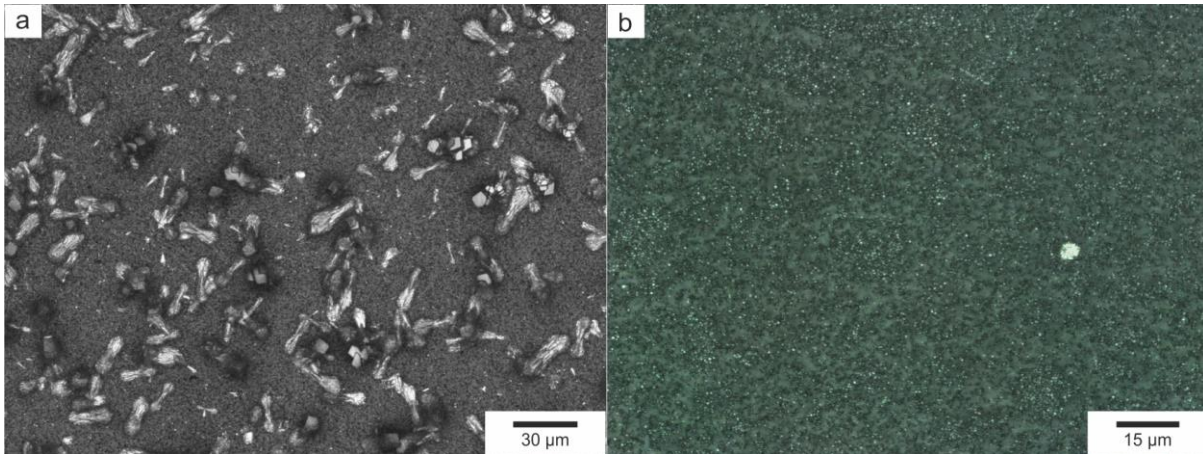


Abb. 20 Lasermikroskopische Aufnahmen beider Membranseiten direkt nach der Kristallisation von CaCO_3 (10 mM) mit Cys-Silicatein- α (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in 25 mM Tris), nur die eine Seite ist mit anisotropen Calcitkristallen belegt (a), während auf der anderen Seite nur die Poren der Membran (SmartMembranes, Porengröße 0.4 μm) zu erkennen sind (b)

Kristallbildung scheint im hier vorliegenden Fall das aggregierte Cys-Silicatein verantwortlich zu sein, welches höchstwahrscheinlich die Ca^{2+} -Ionen komplexiert und dadurch an einer Diffusion durch die Poren hindurch hindert. Somit entspräche das System einer porenkontrollierten Diffusion der Na_2CO_3 -Lösung in eine etwas viskosere Ca^{2+} /Protein-Lösung. In diesem Fall scheint der Mechanismus auch durch die Methode determiniert zu sein, da ähnliche Experimente mittels der ADM zu normalen Calcit-Rhomboedern führten. Die SEM-Aufnahmen belegen einen zu verwobenen Bündeln aus mineralischen Nanofasern bestehenden hierarchischen Aufbau (Abb.21). Aus noch in Anfangsstadien befindlichen wachsenden Kristallen (Abb.21c) lässt sich die Analogie zu den Hanteln von Kniep und Busch herleiten. Die einzelnen Mineralfaserbündel wachsen von der Mitte aus in entgegengesetzten Richtungen entlang einer Vorzugsachse. Wie man aus den SEM-Aufnahmen erkennen kann (Abb.21a), vereinen sich diese zu den Enden hin und exprimieren die für Calcit-Rhomboeder typischen $\{104\}$ -Flächen. Dadurch konnte die $[001]$ -Richtung als Wachstumsrichtung identifiziert werden, wie dies auch häufig bei biogenen Proben der Fall ist. Eine ausführliche Erklärung findet sich in Kap.3. Ein wichtiges Kennzeichen von Biomineralen wie z.B. Perlmutter ist deren hierarchisch strukturierter Aufbau vom Nano- bis über den Mikrobereich hinaus. (117) Wie man aus hochauflösenden SEM-Aufnahmen weiterhin erkennen kann (Abb.22), ist dieses aggregationsvermittelte nicht klassische Kristallwachstumsprinzip auch bei den hier erhaltenen Kompositkristallen verwirklicht. Die Morphologie auf der Mikroskala wird hier durch eine Selbstorganisation von ca. 20 nm kleinen Calcit-Nanopartikeln vorgegeben. Diese ordnen sich zu Fasern an, die wiederum zu Bündeln organisiert letztendlich die $\{104\}$ -Flächen eines

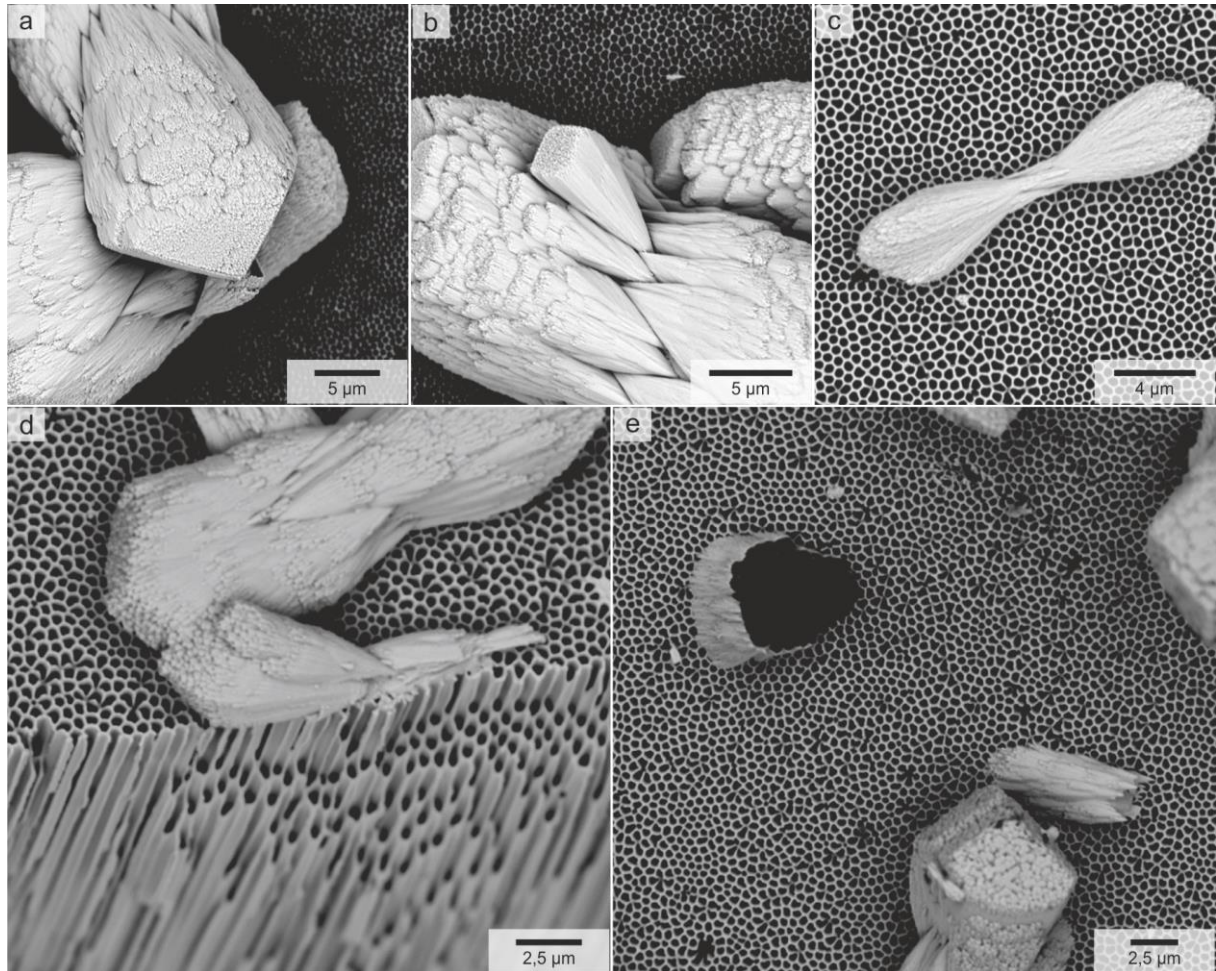


Abb. 21 SEM-Aufnahmen der anisotropen Calcit/Silicatein-Kompositkristalle, wie aus den terminalen $\{104\}$ -Flächen zu erkennen ist (a), sind die Kristalle entlang der $[001]$ -Richtung elongiert, die Kristalle wachsen dabei symmetrisch in entgegengesetzte Richtungen (c), während einzelne Bündel ineinander verwoben sind (b), wie man erkennen kann, sind die Kompositkristalle innen hohl (a,e)

Calcit rhomboedrischen Formen. Aufgrund ihrer gleichförmigen Ausrichtung entlang der c -Achse und der Expression von terminalen Kristallflächen kann man mit großer Wahrscheinlichkeit auch bei diesen Kompositkristallen von Mesokristallen ausgehen. Die Bildung dieser verläuft meist über eine amorphe Zwischenstufe aus Nanopartikeln, welche durch Polyelektrolyte/Proteine stabilisiert in gegenseitiger Orientierung aggregieren. In diesem Fall werden die ca. 20 nm kleinen potentiellen ACC-Nanopartikel durch die relativ hohe Proteinkonzentration intermediär stabilisiert und angeordnet, welche sich allmählich in die thermodynamisch stabile Phase Calcit umwandeln. Dieser Mechanismus wird auch bei synthetischen Additiven beobachtet. (118) (119) Vor kurzem ergaben Kristallisationsexperimente von CaCO_3 mit der löslichen organischen Matrix der Perlmuschel *Pinctada margaritifera* nahezu identische Ergebnisse in Bezug auf einen hierarchischen

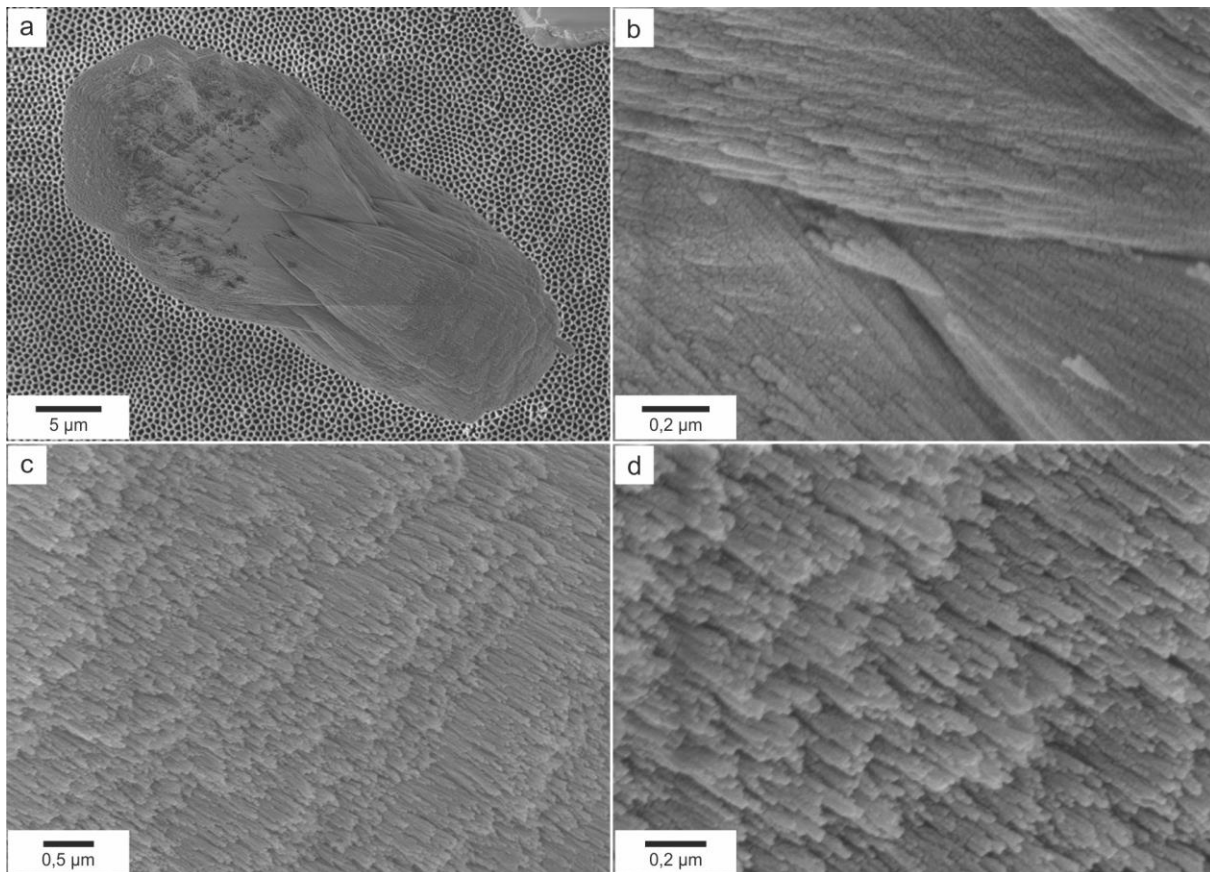


Abb. 22 (a) SEM-Übersichtsaufnahme eines Calcit/Silicatein-Kompositkristalls, (b-d) Selbstorganisationsprinzip der nanostrukturierten Kompositkristalle: die gebündelten Fasern bestehen ihrerseits aus ca. 20 nm kleinen Calcit-Nanokristalliten

Aufbau der Kompositkristalle aus ~ 19 nm kleinen sphäroidischen Nanopartikeln, so wie dies hier der Fall ist. (120) Allerdings ist die Matrix im Gegensatz zu dem hier verwendeten Silicatein sehr komplex. Die Phase dieser Kompositkristalle wurde mittels μ -Raman-Spektroskopie und Röntgendiffraktometrie bestimmt. Die μ -Raman-Analyse wurde an dem in Abb.23 (a) im oberen Teil dargestellten Kristall durchgeführt. Die beiden Gitterlibrationen der Rotation und Translation bei 155 und 280 cm^{-1} sind im Vergleich zum Referenzkristall stark intensiviert und verbreitert, während die E_g -Deformationsschwingung (711 cm^{-1}) und die vollsymmetrische A_{1g} -Valenzschwingung (1086 cm^{-1}) vergleichbar mit der Referenz sind. Die Positionen der Banden entsprechen denen in der Literatur. (106) Auch im Röntgendiffraktogramm (Abb. 23b) können alle bis auf zwei Reflexe der Calcit-Phase zugeordnet werden. Weiterhin wurden die Kristalle mittels SDS-PAGE auf ihren Proteingehalt untersucht. Dazu wurden die Kristalle in verdünnter Salzsäure aufgelöst, die Lösung neutralisiert und mittels Western Blot analysiert. Das in den Kristallen vorhandene

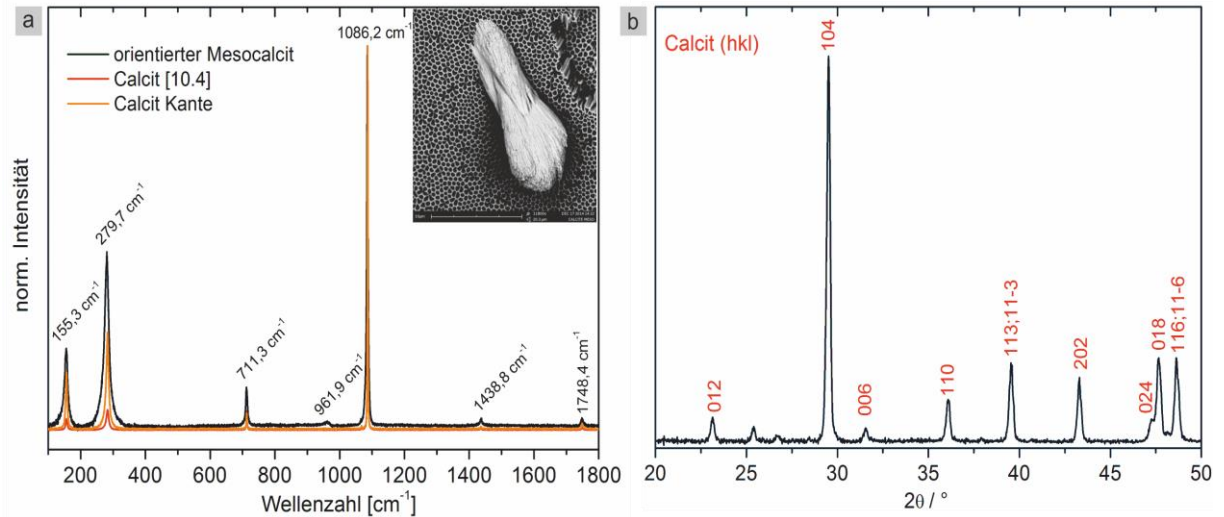


Abb. 23 (a) μ -Raman-Spektrum des auf der SEM-Aufnahme in der oberen Ecke abgebildeten CaCO_3 /Silicatein-Kompositkristalls; als Referenz diente ein orientierter Calcit-Einkristall, alle Spektren wurden auf die vollsymmetrische A_{1g} -Valenzschwingung normiert; (b) Diffraktogramm mit den Reflexen zugeordneten Miller'schen Indizes

Cys-Silicatein- α konnte anhand der 30 kDa-Markierung identifiziert werden (Abb. 24). Das Protein ist also maßgeblich an der Nanostrukturierung der Kristalle beteiligt. Diesen Einfluss des Proteins zeigen auch vergleichende Referenzkristallisationen, in denen analog zu oben verfahren wurde, außer dass die CaCl_2 -Lösung statt mit der Protein-Lösung nur mit dem TBS-Puffer (pH = 7.5) versetzt wurde. Die Membran wurde ebenfalls nach Entgasen der Poren und Spülen mit Millipore-Wasser vor der Verwendung mehrere Tage in der Puffer-Lösung inkubiert. Wie die SEM-Aufnahmen der nach 24 h Reaktionszeit entstandenen Kristalle zeigen,

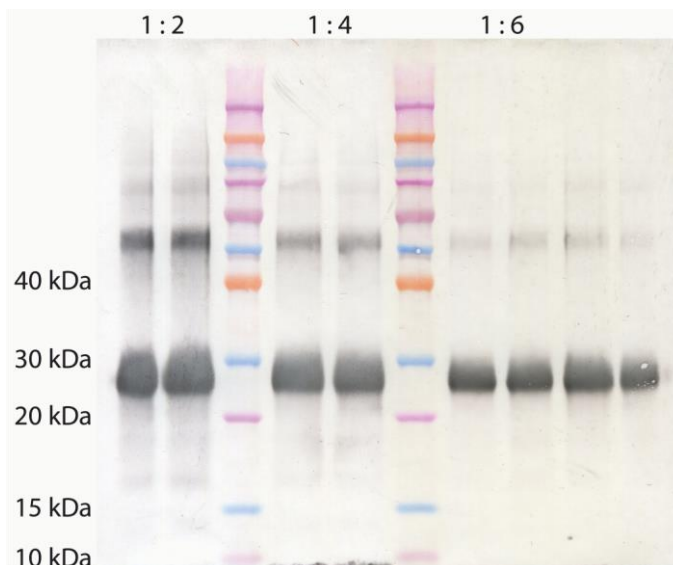


Abb. 24 Western Blot der aufgelösten Calcit-Kristalle in verschiedenen Verdünnungen mit Markern als Referenz, das in der Lösung vorhandene Cys-Silicatein- α ist an der 30 kDa-Markierung zu erkennen

sind diese teilweise ähnlich zu denen mit Protein elongiert, allerdings ist hier keine Nanostrukturierung erkennbar. Es wurden allerdings auch normale Calcit-Rhomboeder beobachtet, die in der proteinhaltigen Probe völlig fehlten. Auch dieses Resultat unterstützt die Wirkung des Proteins. Von der nach 24 h übrigen Ca^{2+} /Protein-Lösung wurde weiterhin der Ca^{2+} -Gehalt mittels AAS bestimmt, um auf die Vollständigkeit der Reaktion zu testen. Dabei reduzierte sich der Gehalt der noch verfügbaren Ca^{2+} -Ionen von der ursprünglich 10 mM konzentrierten CaCl_2 -Lösung auf 0.17 mM (1.7 %). Legt man das Löslichkeitsprodukt von Calcit zugrunde ($-\log K_{LP} = 8.48$) (33), so ist die Lösung immerhin noch 3-fach übersättigt.

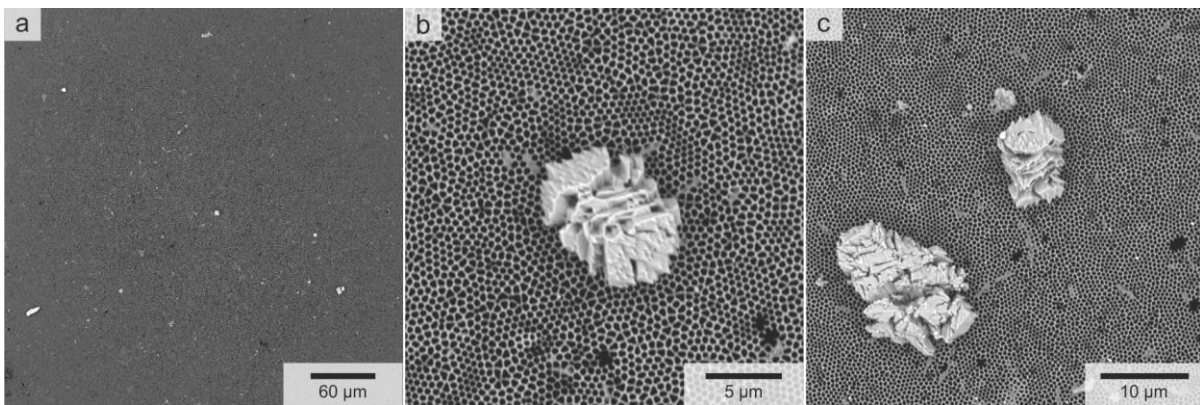


Abb. 25 SEM-Serie der auf der Membran heterogen abgeschiedenen Referenzcalcite (10 mM Ca^{2+} , 12.5 mM TBS), zum Teil besitzen diese eine elongierte Morphologie, allerdings keine Nanostrukturierung (b)

Zusammengefasst nimmt das Protein wie in diesem Experiment verdeutlicht nicht nur im ursprünglichen Zusammenhang mit Silica eine zentrale Rolle in der Bildung von Biomineralen ein, sondern ist auch in der Lage, Calciumcarbonat als ein weiteres wichtiges Biomineral strukturdirigierend zu beeinflussen. Vergleicht man diese Resultate mit der Arbeit von Natalio et al. (105), liegt ein Mechanismus über eine Phasenumwandlung von transienten ACC-Nanopartikeln nahe. Diese ordnen sich linear zu Fasern an und diktieren die übergeordnete Morphologie der Kristalle. Die Ergebnisse stehen damit im Einklang mit nativen Perlmutterproteinen. Im Gegensatz dazu ist die hier verwendete Zusammensetzung der Kristallisation deutlich reduziert, da lediglich ein einziges Protein (Silicatein) daran beteiligt war.

2

Janus-Partikel zur Kristallisationskontrolle

2.1 Einleitung

Wie in Kapitel 3 für die Calciumcarbonat/Au-Kolloid Kompositkristalle gezeigt wird, lassen sich sphärische isotrop funktionalisierte Nanopartikel ähnlich zu Polyelektrolyten in Biominerale unter gleichzeitiger Einflussnahme auf deren Morphologie einbauen. In der Natur spielt das in Kapitel 1 erwähnte Prinzip der molekularen Selbstanordnung von z.B. Proteinen eine wichtige Rolle. Das auf Wechselwirkungen unterschiedlicher funktioneller Gruppen basierende Organisationsprinzip anisotroper organischer und anorganischer Partikel ist häufig für die Selbstanordnung und der daraus resultierenden mechanischen Eigenschaften mit verantwortlich. (121) Um dieses Konzept der Selbstanordnung anisotroper Nanopartikel für die Synthese von Biomineralen zu nutzen, wurden statt der Gold-Kolloide Janus-Partikel als Additive verwendet. Janus-Partikel sind nach dem römischen Gott Janus mit den zwei Gesichtern benannt. Symbolhaft für die zwei Gesichter bestehen diese Art Nanopartikel aus zwei unterschiedlichen Domänen, wie z.B. einer Metall- und einer Metalloxid-Domäne, welche jeweils molekilspezifisch unterschiedlich adressiert werden können um den Janus-Charakter zu verstärken. Dementsprechend finden sie in einem weiten Feld der aktuellen Forschung Anwendung wie z.B. in der molekularen Selbstanordnung (122) (123), der Stabilisierung von Emulsionen (124), Janus-artigen Industriemineralen wie dem Kaolinit (125), und als bifunktionelle optische und elektronische Sensoren. (126) (127) Janus-Partikel tauchten zuerst in der organischen Chemie als flüssig kristalline Dendrimere auf (128) (129) und in der Polymerchemie (130) als Block-Copolymer Mizellen. (131) Die anorganischen Varianten können Kern-Schale (132) (133), bimetallische Nanostäbchen (134), oder heterodimere Morphologien mit unterschiedlichen Zusammensetzungen wie $\text{Au}@Fe_3O_4$ (135) (136), $\text{Au}@MnO$ (137), $\text{Au}@MnO@SiO_2$ (138), $\text{Au}@ZnO$ (139), $\text{Ag}@ZnO$ (140) (141), $\text{Au}@CdSe$ (142) (143) und andere 3d-Metalle wie $\text{Cu}@Fe_3O_4$ (144) umfassen. Neben den zahlreichen

intrinsischen Eigenschaften der Janus-Partikel wie dem Magnetismus (145), den optischen Eigenschaften (146) und den zahlreichen Möglichkeiten, die Partikel mit Farbstoffen und Biomolekülen (147) zu funktionalisieren, spielt die einstellbare asymmetrische Morphologie der unterschiedlich funktionalisierbaren Domänen für das biomimetische Design der Biominerale eine zentrale Rolle. Diese sind somit in der Lage, die Eigenschaften der Kompositmaterialien bis in den Nanobereich hinein zu kontrollieren. Interessant in diesem Zusammenhang ist die Möglichkeit der amphiphilen Modifizierung und der daraus resultierenden Selbstorganisation analog zu natürlichen grenzflächenaktiven Substanzen wie z.B. Lipiden oder Proteinen. Hier sei als Beispiel das Protein Hydrophobin genannt, welches sich auf Pilzoberflächen befindet. Auch Au@Fe₃O₄ Janus-Partikel besitzen mit entsprechender Funktionalisierung eine erhöhte Grenzflächenaktivität im Gegensatz zu homogenen Nanopartikeln. (148) Einen schönen Vergleich zwischen Janus-Partikeln und Detergentien zieht de Gennes in seinem Nobel-Preis Vortrag von 1991. (149) Danach eignen sich orthogonal funktionalisierte anisotrope Janus-Partikel als asymmetrische Additive, die aufgrund ihrer amphiphilen Eigenschaften ein weiteres bioinspiriertes System zu den bereits bekannten Systemen wie Langmuir-Monoschichten (150), Polymer-Templaten (151), Protein beladenen Substraten (152), Mizellaren Systemen (153) oder sich selbst anordnenden Monoschichten („self-assembled monolayers“, SAMs) (154) (155) darstellen. Als Kristallisationsadditive wurden Nanopartikel der Sorte Au@MO_x@SiO₂ verwendet, welche als funktionelle Erweiterung zu den Au-Kolloiden eine mit Silica eingehüllte Metalloxid-Domäne besitzen, wobei diese zum einen aus ZnO und im anderen Fall aus Magnetit (Fe₃O₄) besteht. Zunächst liegt der Fokus jedoch auf den Au@ZnO@SiO₂ Janus-Partikeln.

2.2 Au@ZnO@SiO₂ – optoelektronische Eigenschaften

Au-Nanopartikel als ein Bestandteil der Janus-Partikel besitzen eine große Polarisierbarkeit bzgl. ihrer Leitungsbandelektronen. Die starke Absorption von grünem Licht durch sphärische Au-Nanopartikel basiert zum einen auf dem durch die elektromagnetische Welle induzierten Dipol der Leitungsbandelektronen des Metalls, die kollektiv mit der Resonanzfrequenz gegen das positive Gitter schwingen (Abb. 26b). Dieses Phänomen wurde schon früh zur Färbung von Gläsern verwendet (Abb. 26a) und 1908 durch Gustav Mie's Lösungen der Maxwell'schen Gleichungen beschrieben. (156) (157) Für Partikelgrößen, deren Durchmesser kleiner als die Wellenlänge des elektromagnetischen Feldes ist (~ 100 nm), lässt sich das vereinfachte Konzept der quasi-statischen Approximation (QSA) verwenden, das eine konstante Phase des

harmonisch oszillierenden elektromagnetischen Feldes über das gesamte Partikelvolumen annimmt (Abb.26b). Die Berechnungsgrundlage zur räumlichen Feldverteilung entspricht dabei einem elektrostatischen Feld mit einer davon separierten harmonischen Zeitkomponente. Effekte wie Selbstinduktion werden dabei vernachlässigt. (158) (159) Das elektrische Feld $\vec{E} = E_0 \exp\{-\omega t\} \vec{x}$, wobei ω die Winkelfrequenz, t die Zeit, E_0 eine Konstante und \vec{x} der Einheitsvektor der Richtung ist, induziert in dem sphärischen Nanopartikel einen mit dem E-Feld oszillierenden Dipol gemäß

$$\vec{p} = \varepsilon_m \alpha \vec{E} \quad (2.1)$$

mit der Dielektrizitätskonstanten ε_m des umgebenden Mediums und der Polarisierbarkeit α . Das mit dem Dipol erzeugte elektrische Feld überlagert mit dem äußeren Feld. (160)

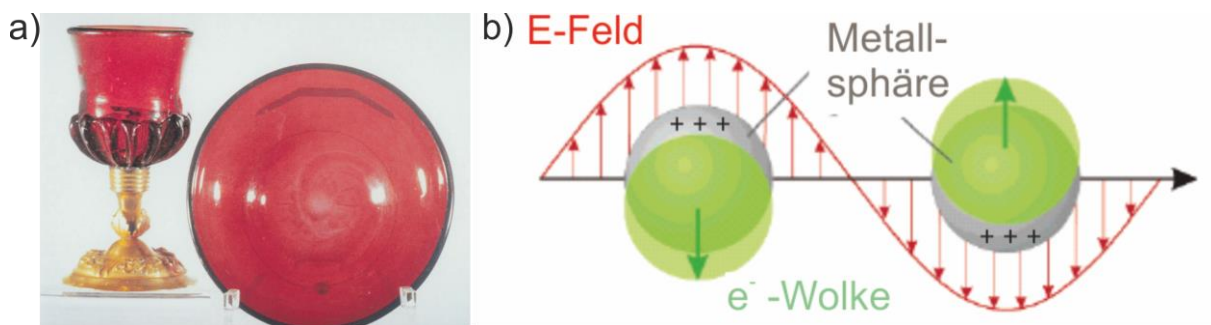


Abb. 26 (a) Rotfärbung von Gläsern mit Gold-Nanopartikeln. Süddeutsch, frühes 17. Jahrhundert, übernommen aus (161); (b) Wechselwirkung von elektromagnetischem Feld mit Oberflächenplasmonen des Metall-Nanopartikels, modifiziert übernommen nach (162)

Im Rahmen der QSA lässt sich die Polarisierbarkeit für sphärische Partikel nach der Clausius-Mossotti Beziehung nach

$$\alpha = 3V\varepsilon_0 \frac{\varepsilon_r - 1}{\varepsilon_r + 2} \quad (2.2)$$

berechnen, wobei ε_r das Verhältnis der Dielektrizitätskonstanten des Metalls zum umgebenden Medium $\varepsilon_{Metall}/\varepsilon_m$, V das Partikelvolumen und ε_0 die Dielektrizitätskonstante des Vakuums ist. (163) (159) (160) Für die Plasma-Frequenz des Metalls gilt:

$$\omega_P = \sqrt{\frac{ne^2}{m^*\epsilon_0}} \quad (2.3)$$

mit der Elektronendichte n , m^* der effektiven Masse der Leitungselektronen, e der Elektronenladung und ϵ_0 der dielektrischen Permittivität des Vakuums. Für den frequenzabhängigen Realteil der komplexen dielektrischen Funktion $\epsilon = \epsilon_1 + i\epsilon_2$ findet man nach dem Drude-Modell (164)

$$\epsilon_1 = 1 - \frac{\omega_P^2}{\omega^2 + \gamma^2} \quad (2.4)$$

mit der Kollisionsfrequenz γ , welche einen Dämpfungsparameter darstellt. Da man für den Frequenzbereich des sichtbaren Lichts γ vernachlässigen kann, erhält man näherungsweise

$$\epsilon_1 = 1 - \frac{\omega_P^2}{\omega^2} \quad (2.5)$$

Die Resonanzbedingung ist für $\epsilon_1 = -2\epsilon_m$ erfüllt und man erhält für die Resonanzfrequenz

$$\omega_{res} = \frac{\omega_P}{\sqrt{2\epsilon_m + 1}} \quad (2.6)$$

Über die Beziehung $\epsilon_m = n_m^2$ kann man die Wellenlänge der maximalen Extinktion der Nanopartikel in Abhängigkeit vom Brechungsindex n_m des umgebenden Mediums nach

$$\lambda_{max} = \lambda_P \sqrt{2n_m^2 + 1} \quad (2.7)$$

berechnen. (165) Es ergibt sich somit ein fast linearer Zusammenhang zwischen λ_{max} und n_m . Diese Beziehung lässt sich bei der Vorhersage von Extinktionsspektren von z.B. Heterodimeren bei Kenntnis des Brechungsindex der Metalloxid-Domäne verwenden. Der verstärkende Beitrag des bei der Resonanzfrequenz oszillierenden Dipols auf das elektrische Feld nach

$$\vec{E}_{out} = \vec{E}_0 + \frac{3\vec{n}(\vec{n} \cdot \vec{p}) - \vec{p}}{4\pi\epsilon_0\epsilon_m} \cdot \frac{1}{r^3} \quad (2.8)$$

wobei \vec{n} und \vec{p} jeweils der Einheitsvektor der Richtung bzw. der Vektor des Dipolmoments und r der Abstand vom Mittelpunkt des sphärischen Partikels ist, beschränkt sich aufgrund der $1/r^3$ -Skalierung mehr oder weniger auf die Partikeloberfläche. Wie bereits oben erwähnt, ist die Extinktion der plasmonischen Nanopartikel, die sich aus dem Streu- und dem Absorptionsbeitrag zusammensetzt, bei der Resonanzbedingung am stärksten. Der Streu- als

auch der Absorptionsquerschnitt sind mit der Polarisierbarkeit α nach Bohren und Huffman (1983) wie folgt verknüpft (163)

$$C_{sca} = \frac{k^4}{6\pi} |\alpha|^2 = \frac{8\pi}{3} k^4 r^6 \left| \frac{\varepsilon - \varepsilon_m}{\varepsilon + 2\varepsilon_m} \right|^2 \quad (2.9)$$

$$C_{abs} = k \text{Im}[\alpha] = 4\pi k r^3 \text{Im} \left[\frac{\varepsilon - \varepsilon_m}{\varepsilon + 2\varepsilon_m} \right] \quad (2.10)$$

wobei $k = 2\pi/\lambda$ die Wellenzahl und r der Partikelradius ist. Für $r \ll \lambda$ dominiert der mit r^3 skalierende Absorptionsbeitrag über den mit r^6 skalierenden Streubeitrag. (158) Aus dem frequenzabhängigen Streuquerschnitt und der Einstrahlintensität pro Fläche $I_0(\omega)/A$ ergibt sich die Streuintensität des Partikels wie folgt (159)

$$I_{sca}(\omega) = \frac{I_0(\omega)}{A} C_{sca}(\omega) \quad (2.11)$$

Der Streuanteil des Lichts kann z.B. mit einem Dunkelfeld-Mikroskop detektiert werden. Neben der dielektrischen Umgebung (Gl. (2.6)) hängt die Resonanzfrequenz auch noch von der Größe und der Form der Nanopartikel ab. (165) (166) (167) Die reine kollektive Oszillation der quasi-freien Leitungsbandelektronen wird gedämpft durch die Abgabe von Photonen und durch strahlungslose Prozesse (z.B. Elektronen-Loch-Paar). Die Populationsabnahme über Photonen spielt erst bei größeren Nanopartikeln ($d \geq 20$ nm) eine Rolle. (168) Betrachtet man die Gesamtheit der Plasmonen-Polaritonen (Quasiteilchen), so kann die Plasmonen-Relaxationszeit durch strahlungslose Dekohärenzprozesse einzelner Elektronen verkürzt werden. Somit wird die kollektive Plasma-Anregung durch Einzelelektronen-Prozesse dephasiert. (161) Die Plasmonen-Relaxationszeit (T_1) bzw. die Relaxationsrate (T_1^{-1}) setzt sich zusammen aus der Strahlungsrelaxationsrate und der Relaxationsrate für strahlungslose Prozesse $1/T_1 = 1/\tau_r + 1/\tau_{nr}$ (2.12). (169) Bei den strahlungslosen Prozessen handelt es sich zum einen um elektronische Interband-Übergänge der 5d-Elektronen in das 6sp-Leitungsband und zum anderen um 6sp-Intraband-Übergänge (Abb. 27). Au-Nanopartikel zeigen ebenso eine deutliche Photolumineszenz (PL). (170) Dulkeith et al. schreiben die PL den durch

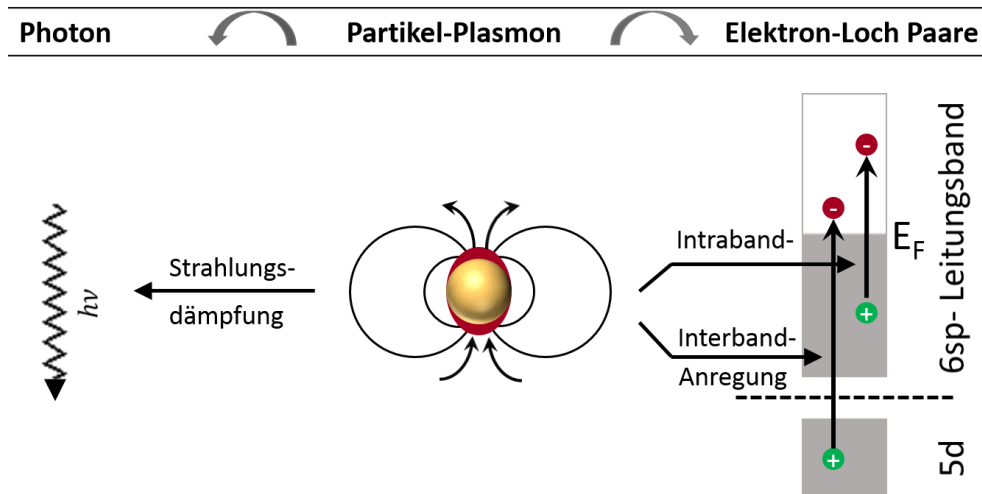


Abb. 27 Plasmonen-Polaritonen Dämpfungsmechanismen, modifiziert übernommen nach (171)

Rekombination von sp-Band Elektronen und d-Band-Löchern entstehenden Partikel-Plasmonen zu. Diese können wiederum als Photonen emittieren. Das Schema in Abb. 28 (a) zeigt die Erzeugung eines Elektron-Loch-Paares durch ein Photon mit der Energie von 3.3 eV.

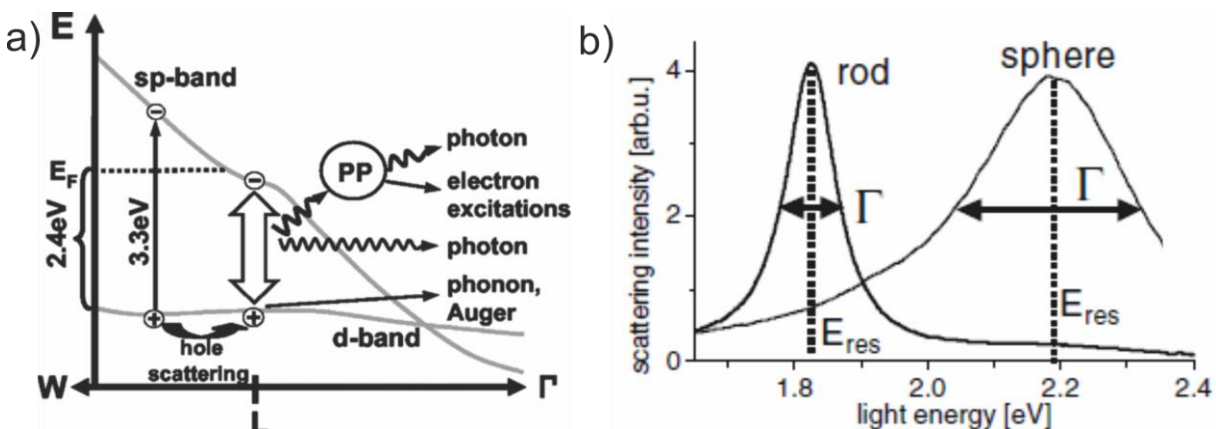


Abb. 28 (a) Möglichkeiten der Relaxation eines angeregten Elektrons und eines Loches, übernommen aus (172); (b) Vergleich der Linienbreiten der mit einem Dunkelfeldmikroskop aufgenommenen Streu-Spektren von Gold-Nanosphären und Stäbchen, übernommen aus (171)

Die Löcher relaxieren innerhalb des d-Bandes und rekombinieren entweder direkt unter Aussendung eines Photons oder via eines Partikel-Plasmons. (172) Häufig ist eine geringe Plasmonen-Dämpfung wünschenswert, z.B. bei optischen Anwendungen wie SERS. Im Gegensatz zu kleinen sphärischen Nanopartikeln sind die Plasmonen-Dämpfungsraten für Gold-Nanostäbchen wesentlich kleiner. So wurden für Gold-Nanostäbchen die bis dahin kleinsten Dämpfungsraten von $T_2^{-1} = (18 \text{ fs})^{-1}$ gemessen. (171) Die Relaxationszeit hängt mit der Linienbreite im Plasmonen-Streuspektrum via $T_2 = 2\hbar/\Gamma$ zusammen. Entsprechend

ergeben sich für die Gold-Nanostäbchen schmalere Linienbreiten im Spektrum (Abb. 28b). Au-Nanostäbchen zeigen zudem starke 2-Photonen-Fluoreszenz, diese Eigenschaft eignet sich insbesondere zur Visualisierung in Zellen. (173) Au-Nanopartikel sind deswegen geeignete Marker, die im Gegensatz zu gewöhnlichen Fluoreszenzfarbstoffen nicht mit der Zeit ausbleichen. (174) Bei ZnO handelt es sich um einen transparenten Halbleiter mit einer Bandlücke von 3.2 eV, (160) der vielfach in Solarzellen, (175) in optoelektronischen Baueinheiten, (176) oder als Zellmarker Verwendung findet. (177) Die letztere Eigenschaft lässt sich ebenso auf die Detektierung der Nanopartikel in Biomineralen anwenden. Die Synthese der Au@ZnO-Nanostäbchen verläuft über das klassische Saatkeim vermittelte Aufwachsen der ZnO-Domäne entlang der [001]-Richtung auf der Au(111)-Fläche, wie HR-TEM-Aufnahmen mit den dazugehörigen Fourier-Transformationen (FFT) belegen. Das epitaktische Aufwachsen der ZnO-Domäne auf die in situ bei 120 °C durch homogene Keimbildung und Wachstum entstandenen sphärischen Au-Nanopartikel wurde durch Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 180 °C erreicht. (139) Somit unterliegt die Nanopartikel-Bildung und das Wachstum neben der Wahl der Schutzliganden vor allem der Temperaturkontrolle, welche durch die Zersetzungstemperaturen der Ausgangsverbindungen determiniert wird. Die so gebildeten Au@ZnO-Nanostäbchen als ein Beispiel für sog. plasmonische Photokatalysatoren zeichnen sich durch zwei charakteristische Merkmale aus: zum einen die bereits erwähnte lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz (LSPR); zum anderen der Schottky-Kontakt an der Schnittstelle des Halbleiters mit dem Edelmetall. Durch das Zusammenwirken beider Merkmale wird die Elektron-Loch Rekombination unterdrückt und somit die Effizienz der Photokatalyse gesteigert. (160) Da ZnO über Sauerstoff-Fehlstellen und somit über überschüssige negative Ladungen verfügt, ist ZnO ein potentiell n-dotierter Halbleiter. Bei Kontakt zu einer Metalldomäne fließt die vorhandene negative Ladung von der Halbleiter-Domäne zur Metall-Domäne, sodass sich in der Schottky-Region ein elektrisches Feld aufbaut, dessen Vektor von der Halbleiter- zur Metall-Domäne gerichtet ist. Das zu Beginn hohe Fermi-Niveau des n-dotierten Halbleiters äquilibriert mit dem Fermi-Niveau des Metalls, wodurch das Leitungsband des Halbleiters soweit abgesenkt wird, dass photochemisch angeregte Elektronen im Metall in das Leitungsband des Halbleiters fließen, während die Löcher im Valenzband des Halbleiters zur Metall-Domäne fließen. (Abb. 29). (160) Dadurch werden die Elektronen von den Löchern getrennt. Durch die Verarmung an Elektronendichte in der Au-Domäne während der Reaktion findet mononukleares Wachstum

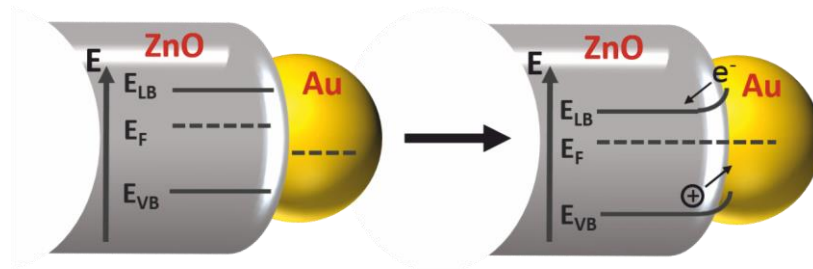


Abb. 29 Darstellung der elektronischen Niveaus vor (links) und nach (rechts) der Angleichung der beiden Domänen, mit Veränderungen übernommen von (178) und (160)

der ZnO-Domäne auf den Au-Keimen anstelle eines polynuklearen verzweigten Wachstums statt. Allerdings können polarere Lösemittel diese Elektronendefizienz kompensieren. So erhält man verzweigte Au@ZnO-Heterodimere in einem Gemisch aus Oleylamin und Benzylalkohol, während die Substitution von Benzylalkohol durch ein Gemisch mit höherem 1-Octadecen-Anteil zu linearem Au@ZnO führt. Die verzweigten Partikel zeigen eine noch stärkere photokatalytische Aktivität als die linearen. (139) Letztere wurden in der hier vorliegenden Arbeit aufgrund ihrer spektroskopischen Eigenschaften und ihrer extremen Anisotropie bei der Kristallisationskontrolle von Calciumcarbonat verwendet. Ein wesentlicher Nachteil dieser unmodifizierten Nanopartikel ist deren Instabilität in nicht neutralen wässrigen Medien aufgrund des amphoteren Charakters der ZnO-Domäne. Um diesen Nachteil zu umgehen, wurde diese selektiv mit einer Silica-Hülle eingekapselt, die für chemische und physikalische Stabilität gegen das umgebende Medium sorgt, gute Löslichkeit in wässrigen Medien bietet, durch die optische Transparenz die inhärenten Eigenschaften der ZnO-Domäne gewährleistet und chemisch weiter modifiziert werden kann. (179) (180) (181) Allerdings sollte die Au-Domäne weiterhin davon unberührt bleiben und weiteren Funktionalisierungen beispielsweise mit Mercaptanen zur Verfügung stehen. Zur Bildung einer Domänen-spezifischen SiO₂-Hülle wurde die Methode der reversen Mikroemulsion verwendet, die für solche Systeme die besten Resultate liefert. (138) (179) Die Synthese von Silica-Nanopartikeln geht auf Stöber und Fink (1968) zurück, die durch basenkatalysierte Hydrolyse und Polykondensation von Alkylsiloxanen in alkoholischen Lösungen SiO₂-Partikel in der Größenordnung von 50 nm bis 2 µm erhielten. (182) Eine Erweiterung dieser Methodik zur monodispersen Verkapselung von Metall/Metalloxid-Nanopartikeln stellt die reverse Wasser-in-Öl (W/O)-Mikroemulsion dar, welche den Vorteil bietet, dass damit die Löslichkeit zuvor hydrophober Partikel invertiert werden kann und die Bedingungen durch die Auswahl des dazu verwendeten amphiphilen Detergentes determiniert sind. Einen Überblick über die spezifischen Detergentien bietet der

Artikel von Guerro-Martinez et al. (183) Reverse Mikroemulsionen als Nanoreaktoren sind thermodynamisch stabile Systeme und erlauben die Synthese monodisperser Nanopartikel. (183) (184) (185) Für die Synthese der Au@ZnO@SiO₂-Januspartikel wurde die bewährte Kombination der basenkatalysierten Hydrolyse von Tetraethylsiloxan (TEOS) in dem System Wasser-in-Cyclohexan mit dem nichtionischen Ethylenoxid-haltigen Tensid Igepal CO-520 verwendet. (186) (187) Eine detaillierte Ausführung findet sich in Kap. 2.4.

2.3 Experimentalteil

2.3.1 Synthese der Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen

Die linearen Au@ZnO Nanopartikel wurden wie in der Literatur beschrieben synthetisiert. (188) Die Silica-Hülle wurde über eine reverse Mikroemulsion nach der Methode von Schladt et al. gebildet, (179) deren Dicke allerdings über die exakte Einstellung des pH-Wertes in der wässrigen Phase kontrolliert wurde. In allen Fällen wurden 200 mg Igepal CO-520 in 3.5 mL Cyclohexan gelöst und für 10 min unter Ar-Atmosphäre gerührt. Zu dieser Lösung wurden 1.6 mg der Oleylamin funktionalisierten Au@ZnO Heterodimere in 70 µL n-Hexan gegeben und für weitere 30 min unter Schutzgas gerührt. Zu dieser Lösung wurden 18 µL einer wässrigen NH₄OH-Lösung, deren pH-Wert vorher durch unterschiedliche Verdünnungen einer 25%igen NH₄OH-Lösung in Millipore-Wasser eingestellt und mittels einer pH-Elektrode kontrolliert wurde, gegeben, um die reverse W/O-Mikroemulsion zu induzieren. Die bei Zugabe anfängliche kurze Trübung der Suspension verschwand rasch wieder und die klare Lösung wurde für 4 min weitergerührt, bevor 14 µL Tetraethylorthosilicat (TEOS) (und Fluorescein-5(6)-isothiocyanat, FITC) addiert wurden. Die Lösung wurde unter Schutzgas-Atmosphäre über Nacht gerührt. Nach ca. 14 h wurden zur weiteren Verbesserung der Wasserlöslichkeit 15 µL 2-Methoxy-(polyethylenoxy)-propyltrimethoxysilan (PEG-TES) dazugegeben und für weitere 2 h gerührt. Die Nanopartikel wurden durch Zentrifugation gesammelt und mehrmals mit Ethanol gewaschen und anschließend zentrifugiert (13.000 rpm, 10 min, RT). Die Partikel zeigten eine gute kolloidale Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln wie Ethanol, Millipore-Wasser und diversen wässrigen Pufferlösungen. Die verwendeten Chemikalien sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tabelle 3

Chemikalie	Formel	Reinheit	Hersteller
Igepal CO-520	$(C_2H_4O)_n \cdot C_{15}H_{24}O$, $n \sim 5$		Sigma Aldrich
TEOS	$Si(OC_2H_5)_4$	$\geq 99.0\%$ (GC)	Sigma Aldrich
FITC	$C_{21}H_{11}NO_5S$	$\geq 90\%$ (HPLC)	Sigma Aldrich
PEG-TES	$Si(OCH_3)_3(CH_2)_3O \cdot (C_2H_4O)_nCH_3$, $n = 6-9$	90%	ABCR
Ammoniak-Lsg.	25% NH_4OH		Sigma Aldrich
Cyclohexan		Analytical Reagent Grade	Fisher Scientific
Ethanol		99.8%	Roth

Die Dicke der Silica-Hülle konnte über den pH-Wert eingestellt werden. Der pH-Wert wurde von 10.3 bis 10.9 variiert. Die selektive Bildung der Silica-Hülle auf den Au@ZnO-Nanostäbchen wurde mittels Elektronenmikroskopie (TEM, HR-TEM), ATR-IR- und Photolumineszenz (PL)-Spektroskopie, konfokaler Fluoreszenzmikroskopie (CLSM) und dynamischer Lichtstreuung (DLS) bestätigt. Weiterhin wurden die spektroskopischen Eigenschaften in Bezug auf die 2-Photonenspektroskopie und Einzelmolekül-Plasmonenresonanzspektroskopie untersucht.

2.3.2 Synthesestrategie der Au@Fe₃O₄@SiO₂-Nanopartikel

Für das System Au-Fe-O gibt es weder eine ternäre Phase noch so etwas wie ein Goldoxid, (178) sodass es für die Au@Fe₃O₄ Nanopartikelsynthese mehrere Möglichkeiten gibt, die allerdings Einfluss auf die Morphologie haben. Die ersten beschriebenen Synthesen von Au@Fe₃O₄-Heterodimeren basieren auf der Arbeit von Yu et al. (2005). Allerdings bilden sich bei der Reproduktion dieser Vorschrift eher Kern/Schale-Partikel als Heterodimere. (178) Die hier verwendeten Synthesen wurden soweit modifiziert, dass sich zum einen Au@Fe₃O₄ Heterodimere mit sphäroider und mit verzweigter, „flower-like“-Morphologie bildeten, wobei die Anforderung einer nachträglichen Funktionalisierung der Au-Domäne im Vordergrund stand. Beide hier verwendeten Varianten basieren auf der heterogenen Nukleation von Eisenoxid durch thermische Zersetzung von Fe(CO)₅ bei 120 °C und anschließendem Wachstum auf zuvor gebildeten Au-Saatkeimen gemäß dem LaMer-Modell. (16) Für die

Synthese der sphäroiden Au@Fe₃O₄-Partikel wurden Oleylamin funktionalisierte Au-Nanopartikel mit einem Durchmesser von 4 nm als Kristallisationskeime vorgelegt. Durch das epitaktische Aufwachsen der Fe₃O₄-Domäne auf eine der Au(111)-Flächen sinkt die Elektronendichte auf der Au-Domäne soweit ab, dass polynukleares Wachstum inhibiert wird. Die abnehmende Elektronendichte an der Au-Domäne kann durch Verwendung polarerer Lösungsmittel kompensiert werden, sodass polynukleares Aufwachsen stattfinden kann. (135) Für den Fall der verzweigten Nanopartikel wurde Benzylalkohol statt des unpolaren Lösungsmittels 1-Octadecen verwendet. Dadurch wurden Janus-Partikel mit mehreren Metalloxid-Domänen auf dem Gold-Keim erhalten, die aufgrund ihres Aussehens an Blüten erinnern, weswegen sie in der Literatur als „flower-like“ bezeichnet werden. Bei dieser Synthese wurden die Gold-Keime allerdings *in situ* erzeugt und Fe(CO)₅ thermisch bei 120 °C zersetzt. Vorbild für diese Variante war die Arbeit von Tahir et al. für die verzweigten Au@ZnO-Heterodimere mit Ausnahme der Addition des Metalloxid-Precursors. (139) Die Wahl des Fe-Precursors hat ebenfalls einen entscheidenden Einfluss auf die Reaktionskinetik der heterogenen Nukleation. So wurden in der Arbeit von Schick monodisperse anisotrope Heterodimere durch die Wahl von Eisen(III)-oleat erhalten. Der Grund hierfür liegt in der höheren Zersetzungstemperatur des Precursors und damit einer besseren Kontrolle der Nukleation durch die Au-Keime. Auch wurde die Zersetzung durch langsames Hochheizen und nicht durch rasche Zersetzung erzielt. Letztere Variante ist nur bei sich niedriger zersetzenden Ausgangsverbindungen wie Fe(CO)₅ sinnvoll. (178) Trotz der unterschiedlichen Resultate wurde in dieser Arbeit Fe(CO)₅ verwendet, das unter den im Folgenden angegebenen Bedingungen zu brauchbaren Ergebnissen führte. Eine Übersicht über die Verhältnisse der Reaktionskomponenten der hier verwendeten Synthesen finden sich in Tabelle 4.

2.3.3 Synthese der 4 nm Au-Nanopartikel

Die Synthese wurde nach der Vorschrift von Peng et al. durchgeführt. (189) Zur Synthese von sphäroiden 4 nm Gold-Kolloiden wurden 0.1 g (0.3 mmol) Gold(III)-tetrachlorid Hydrat (HAuCl₄·3H₂O) in einem 3-Hals-Kolben mit 10 mL Oleylamin (OAm) und 10 mL 1,2,3,4-Tetrahydronaphthalin (Tetralin) für 10 min unter Ar-Schutzgasatmosphäre gerührt. Eine im Ultraschallbad (US) hergestellte Reduktionslösung aus 52.4 mg (0.52 mmol) Morpholin-Boran-Komplex (MB) in 1 mL OAm und 1 mL Tetralin wurde rasch zur orangenen Au-Precursor-Lösung gegeben. Dabei trat ein rascher Farbumschlag der Reaktionslösung nach tief-violett ein. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur (RT) wurden die Nanopartikel mit 60 ml Aceton gefällt,

zentrifugiert (10 min@9000 rpm) und ein weiteres Mal mit Aceton gewaschen, bevor die Partikel in n-Hexan mit etwas zugesetztem OAm im Kühlschrank gelagert wurden.

Tabelle 4

Chemikalie	Reinheit	Hersteller	Au@Fe ₃ O ₄ sphäroid Menge	Au@Fe _x O _y verzweigt Menge
H ₂ AuCl ₄ ·3H ₂ O	99.99% (ACS)	ABCR	0.08 mmol*	0.12 mmol
Fe(CO) ₅	> 99.99%	Sigma	2 mmol	1 mmol
Oleylamin (OAm)	80-90%	Acros	2 mL	5 mL
Ölsäure (OA)	Reagent grade	Fisher Scientific	2 mL	1 mL
1-Octadecen (ODE)	90%	Acros	20 mL	-
Benzylalkohol	99.8%	Sigma	-	8 mL
1,2,3,4-Tetrahydro-naphthalin (Tetralin)	99.9%	Sigma Aldrich		
Morpholin-Boran-Komplex (MB)	95%	Sigma		
11-Mercaptoundecanonsäure	95%	Sigma		
Aceton	p.a.			
n-Hexan	Analytical Reagent grade	Fisher Scientific		
i-Propanol	p.a.			
Tris-Puffer (TBS, pH = 8)		Sigma		
Tris-(2-carboxyethyl)phosphin Hydrochlorid (TCEP)	≥ 98.0 %	Sigma		

2.3.4 Synthese der sphäroiden Au@Fe₃O₄-Heterodimere

Eine Mischung aus 15,0 mg (~ 0.08 mmol) der zuvor synthetisierten 4 nm Au-Kolloide in 20 mL 1-Octadecen (ODE) mit 2 mL Oleylamin (OAm) und 2 mL Ölsäure (OA) wurde für 10 min mit Ar-Schutzgas gespült. Die Reaktionsmischung wurde innerhalb von 10 min auf 120 °C geheizt und für 20 min bei dieser Temperatur gehalten. Nach rascher Zugabe von 0.27 mL (2 mmol) Eisenpentacarbonyl wurde die Reaktion innerhalb von 30 Min auf 310 °C geheizt und für 1 h bei dieser Temperatur gehalten. Nach Abkühlen auf RT wurden die Nanopartikel in i-Propanol gefällt, zentrifugiert (10 min@9000rpm) und ein weiteres Mal mit i-Propanol gewaschen. Die braun-schwarzen Nanopartikel wurden in n-Hexan unter Zugabe eines Gemisches aus OAm/OA (1:4) dispergiert und im Kühlschrank gelagert.

2.3.5 Synthese der verzweigten Au@Fe_xO_y-Heterodimere

In dieser Synthese wurden die Au-Keime *in situ* erzeugt. Kurz, eine Mischung aus 40 mg (0.12 mmol) Gold(III)-tetrachlorid-Hydrat, 5 mL Oleylamin und 1 mL Ölsäure in 8 mL Benzylalkohol wurde unter Ar-Schutzgasatmosphäre in 20 min auf 120 °C geheizt und bei dieser Temperatur für 20 min gehalten. Dabei bildeten sich die Au-Kolloide, wodurch die Reaktionslösung sich allmählich tiefrot färbte. Zu dieser Lösung wurden 0.14 mL (1 mmol) Eisenpentacarbonyl gegeben. Innerhalb von 20 min wurde die Reaktionsmischung auf 200 °C geheizt und für weitere 30 min bei dieser Temperatur gehalten. Währenddessen färbte sich diese dunkelbraun. Nach Abkühlen auf RT wurde das Produkt durch Zugabe von 10 mL Ethanol gefällt und nach Zentrifugation (15 min@9000 rpm) ein weiteres Mal mit Ethanol gewaschen. Schließlich wurde das Produkt in 10 mL Hexan mit 5% OAm im Kühlschrank gelagert. Die Phase der Eisenoxiddomäne konnte zu diesem Zeitpunkt noch nicht bestimmt werden, weshalb die Partikel im Folgenden als Au@Fe_xO_y bezeichnet werden.

2.3.6 Silica-Funktionalisierung der Eisenoxid-Domänen

Zur Bildung einer 2 nm dicken Silica-Hülle wurde wiederum die reverse Mikroemulsionsmethode wie bei den Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen verwendet. Im Unterschied zu diesen konnte der pH-Wert der wässrigen NH₄OH-Lösung auf pH = 11.47 erhöht werden, da dieses System im Gegensatz zur Basenlabilität der ZnO-Domäne sich nicht auflöst. Kurz, zu einer Lösung von 1 g Igepal CO-520 in 20 mL Cyclohexan wurden 4.5 mg der in n-Hexan stabilisierten Au@Fe₃O₄- bzw. Au@Fe_xO_y- (allg. M@MO-) Nanopartikel gegeben und für 20 min unter Ar-Schutzgasatmosphäre gerührt. Die reversen Mizellen wurden durch Zugabe

von 75 μL NH_4OH -Lösung ($\text{pH} = 11.47$) induziert, deren Bildung sich durch Aufklaren der anfänglichen Trübung sichtbar machte. Nach 4 min wurden 60 μL Tetraethylorthosilicat dazugegeben und die Reaktion für 14 h unter Ar-Schutzgas bei RT gerührt, bevor die Silica-Hülle durch Zugabe von 75 μL PEG-TES und Rühren für weitere 3 h funktionalisiert wurde. Die Partikel wurden durch Zentrifugieren (10 min, 13300 rpm, RT) gesammelt, einmal mit Cyclohexan und zweimal mit Ethanol gewaschen, bevor sich die Partikel in polaren Lösungsmittel wie CHCl_3 , Aceton, Ethanol und Millipore-Wasser lösen ließen.

2.3.7 Funktionalisierung der Au-Domäne

Die Transmissionselektronen-mikroskopische Untersuchung ergab für die $\text{Au}@Fe_xO_y@SiO_2$ „nanoflowers“ eine selektive 2 nm dicke Silica-Hülle um die Metalloxid-Domäne herum, wobei die Au-Domäne aufgrund der vitreophoben Eigenschaften frei blieb, sodass nachträgliche Funktionalisierung mit Mercaptanen wie Proteinen oder der 11-Mercaptoundecanonsäure (11-MUA) möglich war. Dazu wurden 5 mg der $\text{Au}@Fe_xO_y@SiO_2$ Partikel in 5 mL Chloroform gelöst und mit einer Lösung von 10 mg 11-MUA in 10 mL Chloroform bei RT versetzt. Nach Rühren über Nacht (14 h) wurde die Lösung zentrifugiert (15 min, 13300 rpm, RT), das Produkt jeweils zweimal mit Chloroform, Ethanol und Millipore-Wasser gewaschen, bevor die Partikel zur weiteren Verwendung in den Kristallisationsexperimenten eingesetzt wurden.

2.3.8 Funktionalisierung der Silica-Hülle mit Cys-Silicatein- α

Die Silica-Hülle der sphäroiden $\text{Au}@Fe_3O_4@SiO_2$ -Nanopartikel konnte nachträglich mit einer Protein-Korona funktionalisiert werden. Dazu wurden die in 25 mM Tris-Puffer (TBS, $\text{pH} = 8$) gelösten Nanopartikel (0.1 mg/mL) 1:1 mit einer Lösung von 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Cys-Silicatein in 25 mM Tris-Puffer über zwei Tage inkubiert.

2.3.9 Funktionalisierung der Fe_3O_4 -Domäne mit AA-co-AMPS-Polymer

Eine weitere Möglichkeit zur Hydrophilisierung der $\text{Au}@Fe_3O_4$ -Nanopartikel ist die Anbindung eines polaren wasserlöslichen Co-Polymers an die Metalloxid-Domäne. Das hierfür verwendete statistische $\text{AA}_{20}\text{-co-AMPS}_{80}$ -Polymer ($\text{PDI} = 1.344$) wurde aus der Arbeitsgruppe von Prof. R. Zentel erhalten. Das Polymer wurde über die RAFT-Polymerisationsmethode aus Acrylsäure (AA) und dem Na-Salz der 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure (AMPS) erhalten. Die Funktionalisierung der $\text{Au}@Fe_3O_4$ -Heterodimere wurde durch die Zugabe von 6 mg Nanopartikel in 1 mL Hexan zu einer Dispersion von 50 mg

Polymer in 40 mL Chloroform durchgeführt. Das Polymer ließ sich in Chloroform nur schwer lösen und zeigte nur in Wasser ausreichende Löslichkeit. Die zunächst klare Nanopartikel-Lösung trübte sich nach Rühren über zwei Tage ein, was auf eine Anbindung des Polymers an die Partikeloberfläche hindeutete. Die so funktionalisierten Nanopartikel wurden durch Zentrifugation (10 min, 13300 rpm, RT) gesammelt, einmal mit Methanol und dreimal mit basischem Millipore-Wasser (pH = 10.0, wässrige NH_4OH) gewaschen, um ungebundenen Polymer zu entfernen. Vor der Verwendung zu Kristallisationszwecken wurden die Partikel ein weiteres Mal mit neutralem Millipore-Wasser gewaschen. Die Partikel zeigten eine gute kolloidale Stabilität in wässrigen Medien. Alle Nanopartikel wurden mittels Transmissionselektronen-Mikroskopie (TEM), UV-Vis-Spektroskopie und dynamischer Lichtstreuung (DLS) untersucht.

2.4 Ergebnisse und Diskussion

2.4.1 Eigenschaften der Au@ZnO@SiO_2 -Nanostäbchen

Durch die selektive Funktionalisierung der ZnO-Domäne mit einer wasserlöslichen Silica-Hülle unter Beibehaltung der hydrophoben Au-Domäne konnten die in der Einleitung erwähnten Tensid-Eigenschaften der Janus-Partikel erheblich verstärkt werden, wodurch sich interpartikuläre Selbstanordnungseffekte und Anordnung an Grenzflächen ergaben. Zusammen mit den inhärenten spektroskopischen Eigenschaften des plasmonischen Photokatalysators eignen sich die Partikel nicht nur zur Markierung von Zellen *in vitro*, (188) sondern auch als anisotrope Bausteine zur Ausbildung von Nanopartikel/Calciumcarbonat-Kompositkristallen. Zunächst sollen allerdings die Selbstanordnungseffekte der Nanostäbchen betrachtet werden, deren Verhalten natürlich auch das Kristallwachstum von Biomineralen in wässrigen Systemen beeinflusst. Für ein ähnlich anisotropes System konnten Zhao et al. 2011 die Selbstanordnung von orthogonal funktionalisierten Au@CdSe -Nanostäbchen in Abhängigkeit von der Wahl des Lösungsmittels zeigen. (143) Diese betraf aber nicht-wässrige Systeme im Gegensatz zu den hier vorgestellten Au@ZnO@SiO_2 -Nanostäbchen, die sich für biologische Systeme eignen und ähnliche Aspektverhältnisse aufweisen. Voraussetzung für eine in diesem System erfolgreiche Verwendung der basischen Hydrolyse von Alkylsilicaten mittels reverser Mikroemulsionstechnik ist die exakte Kontrolle des pH-Wertes der Mizellen induzierenden wässrigen Phase, da alle bisherigen Varianten die Reaktionskinetik über die Menge an TEOS

(190), oder allgemein über die Konzentrationsverhältnisse der Agentien (186) kontrollierten. Das in diesen Arbeiten und auch unter anderem für MnO@SiO₂ Kern/Schale-Partikel erfolgreich verwendete Protokoll der Mizellbildung mittels konz. NH₄OH-Lösung wurde soweit modifiziert, dass auch labilere Nanopartikel erfolgreich funktionalisiert werden können. Das Reaktionsschema ist in Abb.30 dargestellt. Die Synthese der Au@ZnO@SiO₂-Heterodimere basiert auf der heterogenen Nukleation von ZnO auf in situ gebildeten Au-Saatkeimen mittels Kontrolle über einen Temperaturgradienten. Für weitere Details sei hier auf die Literatur verwiesen. (139) Die anschließende Silica-Funktionalisierung der in n-Hexan stabilisierten hydrophoben Au@ZnO-Nanostäbchen konnte selektiv mit einstellbarer Dicke um die ZnO-Domäne mittels reverser Mikroemulsion durch pH-Wert-Kontrolle erreicht werden. Unter Beibehaltung aller weiteren Parameter

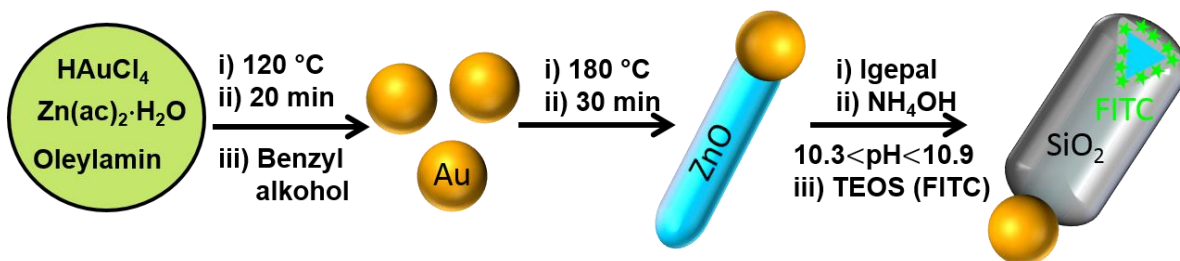


Abb. 30 Syntheseprotokoll der Au@ZnO@SiO₂ Nanostäbchen, die durch Au-Saatkeim vermitteltes epitaktisches Wachstum der ZnO –Domäne und deren anschließender Funktionalisierung mit einer schützenden SiO₂-Hülle (grau) mit eingelagertem Fluoreszenzfarbstoff (grün), übernommen aus (188)

betrug die Dicke der Silica-Hülle entweder 1-2 nm (pH = 10.3) oder 3-4 nm (pH = 10.9) (Abb. 31). Interessanterweise bleibt die Au-Domäne davon unberührt. Diese ist aus der Synthese heraus nur mit Oleylamin stabilisiert und kann somit mit thiolhaltigen Biopolymeren sehr leicht nachträglich funktionalisiert werden. Zu den Ursachen dieses Resultats sollen im Folgenden ein paar Überlegungen angestellt werden. Um die Silica-Hüllenbildung um Edelmetalle wie Au-Nanopartikel gibt es einige kontroverse Diskussionen. Die vitreophobe Eigenschaft dieser Partikel erfordert eine Invertierung durch eine entsprechende Funktionalisierung der Oberfläche. So wurden z.B. Citrat-stabilisierte Au-Nanopartikel mit (3-Aminopropyl)-trimethoxysilan (APTMS) umfunktionalisiert, (191) des Weiteren Poly(vinylpyrrolidon) (PVP) (192) oder Poly(ethylenglycol)-thiol (133) als adsorbierte Stabilisierer in ethanolischer Lösung in einem modifizierten Stöber-Prozess verwendet. Bei 50-60 nm großen

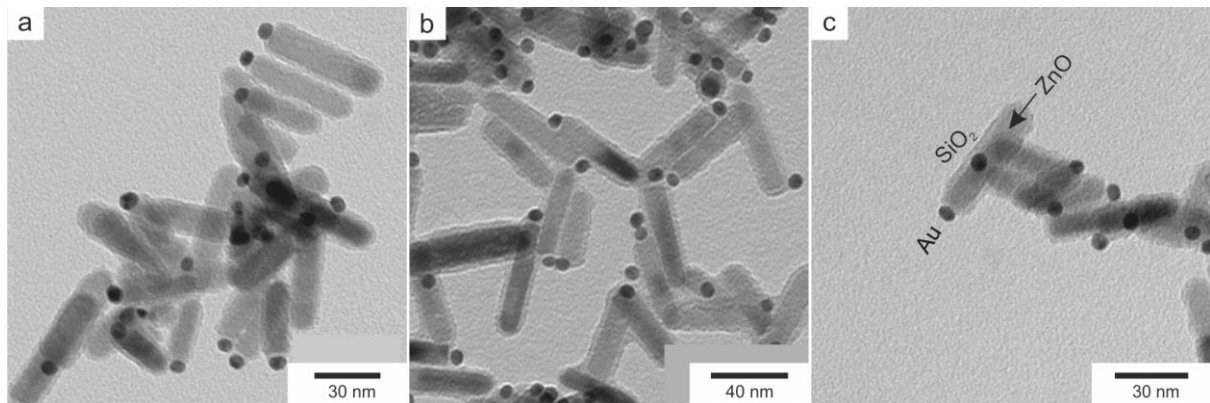


Abb. 31 (a) Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen mit 1-2 nm und (b und c) 2-3nm dicker Silica-Hülle, die Au Domäne ist nicht umhüllt und kann weiterhin funktionalisiert werden (188)

Partikeln konnte allerdings auch ohne diese Oberflächenliganden eine Silica-Hülle mittels modifiziertem Stöber-Prozess erhalten werden. (193) (194) Allerdings waren die Nanopartikel aus der Synthese heraus bereits mit polaren Molekülen wie Citrat oder Ascorbinsäure stabilisiert, sodass man auch hier nicht von unfunktionalisierten Partikeln sprechen kann. Han et al. (2008) gelang zum ersten Mal die Silica-Einkapselung von Oleylamin stabilisierten 12 nm Au-Kolloiden mittels reverser Mikroemulsion. Die Autoren fanden heraus, dass sich so Partikel bis zu einer maximalen Größe von ca. 90 nm mit dieser Methode herstellen lassen, bevor die reverse Mikroemulsion kollabiert. Die Autoren erklären die Invertierung der Oberfläche der Au-Kolloide durch die intermediär auftretenden Silicat-Spezies und deren Substitution der Oleylamin-Liganden, wodurch weiteres Silica-Wachstum stattfinden kann. (185) Hierbei stellt sich jedoch die Frage, inwieweit das nach dem Pearson-Konzept „weiche“ Oleylamin durch ein relativ „hartes“ Oxyanion auf der „weichen“ Goldoberfläche ersetzt wird. Diese Diskussion wirft in Bezug auf die Einkapselung von Heterodimeren die Frage auf, wie eine Präferenz der Silica-Einkapselung der Metalloxid-Domäne gegenüber der Edelmetall-Domäne erzielt werden kann. In diesem Zusammenhang sei auf die Arbeit von Wu et al. verwiesen. (187) Die Autoren schlagen einen Ligandenaustausch der Oleylamin/Ölsäure-Liganden durch Ammoniak-Moleküle vor, wodurch die hydrophobe Natur der Metalloxid-Domäne invertiert wird. Dagegen bleibt die hydrophobe Natur der Au-Domäne nach vorheriger Funktionalisierung mit einem Alkyl-Thiol erhalten, da dieses eine höhere Affinität zu der Edelmetall-Domäne als das Amin besitzt. Dadurch lassen sich diese Heterodimere ausschließlich auf der Metalloxid-Domäne mit einer Silica-Hülle einkapseln. Durch die so verstärkte amphiphile Natur der Heterodimere lagern sich die Partikel an der Grenzfläche der reversen Mizellen an und selektive Silica-Funktionalisierung findet nur an der Metalloxid-Domäne statt. Gestützt wurde diese These durch die Grenzflächenaktivität der Au@Fe₃O₄-Januspartikel an einer Cyclohexan/Wasser-

Grenzfläche nach Behandlung mit einem hydrophoben Thiol und Ammoniak. Den Autoren zufolge ergeben Kontrollexperimente ohne Thiol in reverser Mikroemulsion eine komplette Einkapselung beider Domänen. Ein zweiter Punkt sind die eingesetzten Mengenverhältnissen an Nanopartikel/Silica-Precursor, mit denen Lee et al. die Schichtdicken variieren konnten. (195) In allen Fällen wurde allerdings konz. Ammoniaklösung verwendet, um die Mizellen zu induzieren und TEOS zu hydrolysieren. Dabei steigt die Wachstumsrate der Silica-Bildung und somit auch die Schichtdicke mit zunehmender Ammoniakkonzentration an, wie eine frühe Lichtstreu-Studie von 1988 zeigen konnte. (196) Zur selektiven SiO₂-Einkapselung der Metalloxid-Domäne stellte I. Schick in ihrer Arbeit fest, dass es eine kritische Schichtdicke gibt, bei der sich trotz der vitreophoben Eigenschaft eine Hülle um die Metall-Domäne bildet. (178) Von daher scheint hier die mildere Reaktionsführung mit reduzierter Basizität eine mögliche Ursache für die frei bleibende Au-Domäne der Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen zu sein, wie TEM-Aufnahmen belegen (Abb. 31 und Abb. 32). Dagegen kam es unter den Standardbedingungen (konz. NH₄OH) zur Auflösung der Partikel mit sofortiger Aggregation der Au-Kolloide, welche eine Rotverschiebung des Extinktionsspektrums in Form eines beobachteten Farbwechsels der Reaktion von rot nach tief-violett hervorrief, wie er auch aus der Literatur bekannt ist. (156) Die milde Reaktionsführung mit einer relativ dünnen SiO₂-Hülle (2-5 nm) zusammen mit der guten Benetzbarkeit von ZnO mit Igepal CO-520 (197) (198) (199) könnte somit für die selektive Einkapselung allein der ZnO-Domäne verantwortlich sein. Auch bei leichter Erhöhung des pH-Wertes der Mizellen-induzierenden wässrigen Phase konnte keine Einkapselung der Au-Nanodomäne beobachtet werden. Allerdings lösten sich einige der Gold-Sphären von dem Stäbchen wahrscheinlich durch partielles Auflösen des Zinkoxids (Abb. 32). Bei einem pH-Wert von pH = 11.2 wurden vor allem ZnO@SiO₂-Nanostäbchen mit separierten Au-Nanopartikeln erhalten, die jedoch nicht mit SiO₂ umhüllt waren. An dieser Stelle kann nur vermutet werden, dass die Oleylamin-Liganden auf der Au-Oberfläche hier nicht durch andere Basen verdrängt werden können und somit die vitreophobe Eigenschaft erhalten bleibt. Der von Wu et al. vorgeschlagene Ligandenaustausch (vgl. (187)) vollzieht sich somit vornehmlich an der Metalloxid-Domäne. Mögliche Ursachen sind hier die Koordination von Basen an die oberflächlichen Zn-Atome oder die Affinität des Tensids zur ZnO-Oberfläche durch Wasserstoffbrücken-Bindungen. Die hier verwendete reverse Mikroemulsion wurde ohne die Zugabe von Nanopartikeln mittels dynamischer Lichtstreuung

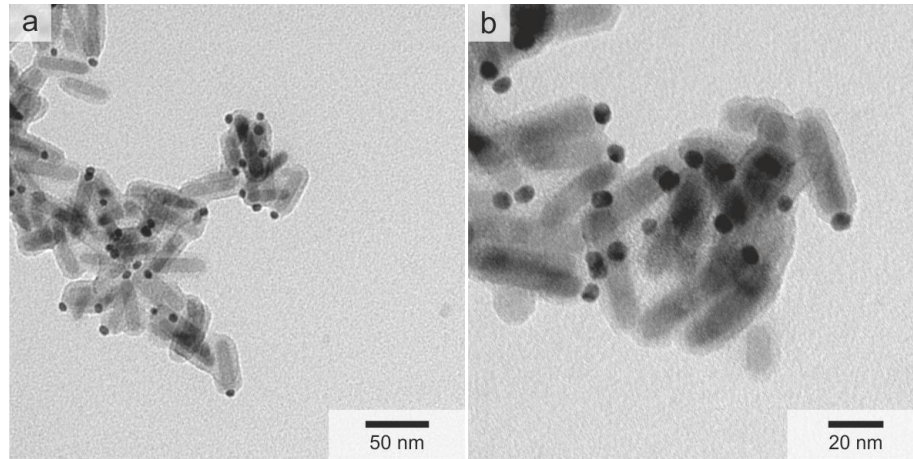


Abb. 32 (a) Übersichts-TEM Aufnahme der mittels reverser Mikroemulsion synthetisierten Au@ZnO@SiO₂ Nanostäbchen mit freier Au-Domäne bei pH = 10.9; (b) Detail-Aufnahme, Dicke der SiO₂-Hülle $d \sim 5$ nm (188)

(DLS) untersucht, um Abschätzungen über einen möglichen Reaktionsmechanismus anzustellen. Dazu wurde zunächst eine 0.1 M (50 mg/mL) Lösung von Igepal CO-520 in Cyclohexan vermessen, und anschließend 0.45 Vol.-% an Wasser zugesetzt. Wie aus Abb.33 zu erkennen, bildet Igepal CO-520 in Cyclohexan monodisperse Mizellen mit einem hydrodynamischen Radius von $R_H = 1.5$ nm. Bei Zugabe einer geringen Menge Millipore-Wasser wächst der Radius auf $R_H = 3.7$ nm an. Der Logarithmus der Autokorrelationsfunktion $g_1(\tau)$ wurde monoexponentiell angefitet nach

$$\ln g_1(\tau) = -\kappa_1 \tau \quad (2.13)$$

wobei $\kappa_1 = \langle D_s \rangle q^2$ der erste Kumulant mit dem mittleren Selbstdiffusionskoeffizienten $\langle D_s \rangle$ und dem Streuvektor q ist. (200) Der „wahre“ Z-gemittelte Diffusionskoeffizient ergibt sich durch Extrapolation einer winkelabhängigen Reihe für $q \rightarrow 0$, wodurch dieser vom Partikelformfaktor unabhängig wird. Die Messungen wurden bei einem Streuwinkel von $\theta = 20^\circ$ durchgeführt, sodass die Werte sehr nahe am Z-Mittel liegen. Der hydrodynamische Radius ergibt sich dann nach der Stokes-Einstein-Gleichung

$$\langle R_H \rangle = \frac{kT}{6\pi\eta\langle D_s \rangle} \quad (2.14)$$

mit der Viskosität η für Cyclohexan von 0.979 cP. Durch die zugesetzte Menge an Millipore-Wasser nimmt der Durchmesser der Mizellen auf mehr als das Doppelte zu, wobei die Mizellen sehr monodispers bleiben (Abb. 33). Dieses durch das Wasser induzierte Quellen lässt sich mit

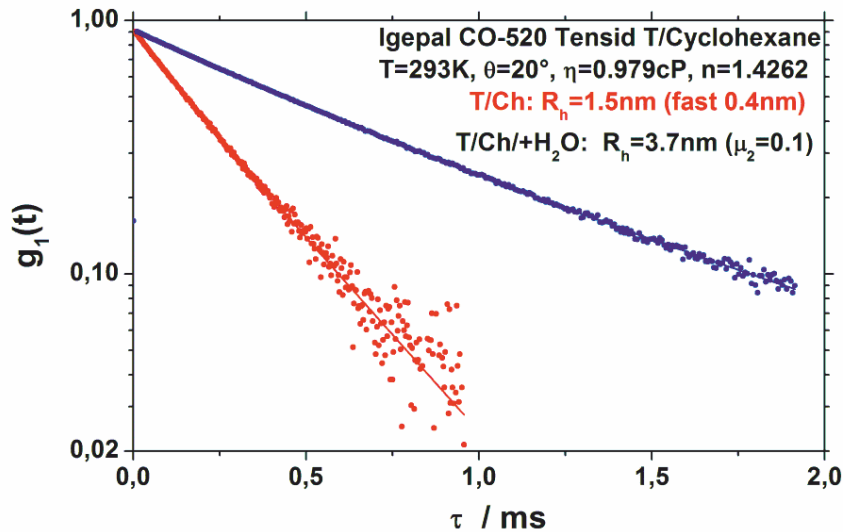


Abb. 33 DLS-Größenbestimmung des reversen Mikroemulsionssystems Igepal CO-520/Cyclohexan ohne (rot) und mit zugesetztem Millipore Wasser (blau) bei einem Streuwinkel von $\theta = 20^\circ$ ($c_{Igepal} = 0.1$ M, 0.45 Vol.-% H_2O)

dem eines Hydrogels vergleichen, da hier das Innere der Mizellen aus quellbarem Poly(ethylenglycol) (PEG) besteht. Da Mikroemulsionen thermodynamisch stabile Systeme sind und sowohl der Inhalt als auch das Detergenz zwischen Mizellen austauschen können, (183) kann man ein Spreiten der Mizellen durch die oben erwähnte Wechselwirkung der PEG-Ketten mit der ZnO-Oberfläche vermuten. Allerdings sei hier erwähnt, dass bei der hier verwendeten Methode die Nanopartikel vor der Zugabe von Wasser zu den Igepal-Mizellen gegeben werden, sodass das Detergenz wahrscheinlich zuerst an die der ZnO-Oberfläche adsorbiert, bevor sich die Ammoniaklösung an die Grenzschicht anlagert. Dieses würde zumindest die partielle SiO_2 -Hülle um die ZnO-Domäne erklären, da diese durch das Detergenz vermittelt wird. Der vermutete Mechanismus ist in Abb. 34 dargestellt. Das tatsächliche Vorhandensein einer SiO_2 -Beschichtung wurde mittels abgeschwächter Totalreflexions-Fouriertransformations-Infrarotspektroskopie (ATR-FT-IR) untersucht. Vor der Funktionalisierung dominierten die symmetrischen und asymmetrischen Schwingungsbanden der CH_2 - und CH_3 -Gruppen bei 2926 und 2854 cm^{-1} . Die Banden zwischen 1200 und 1000 cm^{-1} nach der Funktionalisierung können den O-Si-O-Schwingungen zugeordnet werden. Die schwachen Banden im olefinischen Bereich des IR-Spektrums stammen von der nachträglichen PEG-TES-Funktionalisierung der Silica-Hülle oder von der Au-Domäne (Abb. 35).

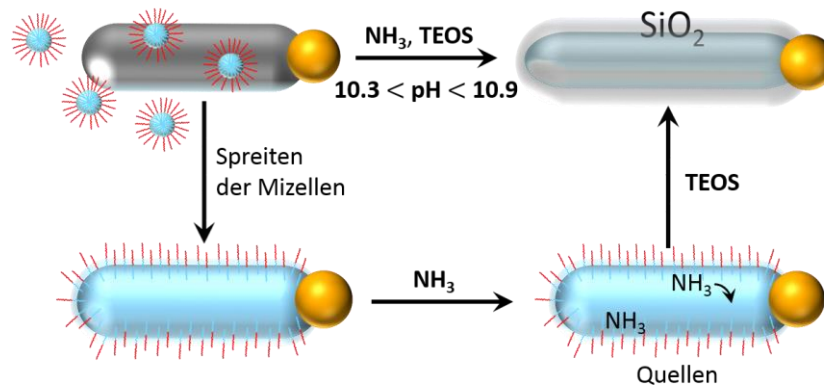


Abb. 34 Vermutete Wechselwirkung der Igepal CO-520 Mizellen mit den Au@ZnO-Heterodimeren. Die PEG-Einheiten (blau) adsorbieren an die ZnO-Oberfläche über Wasserstoffbrückenbindungen, während die Kohlenwasserstoffketten (rot) die Partikel kolloidal in Cyclohexan stabilisieren

Die durch die hydrophil funktionalisierte Silica-Hülle verstärkte Amphiphilie der Nanostäbchen mit der einhergehenden Selbstanordnung über die hydrophoben Au-Domänen in polaren Lösungsmitteln konnte mittels UV-Vis-Spektroskopie nachgewiesen werden. Ein Vergleich der Extinktionsmaxima der Au-Saatkeim-Nanopartikel mit den Au@ZnO- und Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen zeigt deutlich den Einfluss der chemischen Umgebung auf die Plasmonenresonanz von Gold. Sphärische Au-Nanopartikel in der Größenordnung von 5-12 nm besitzen ein Extinktionsmaximum der Plasmonen-Resonanz im Bereich von 512-520 nm, wie die gestrichelte Kurve in Abb.36(a) zeigt. Das exakte Maximum der Plasmonen-Resonanz ist dabei spezifisch für die Partikel-Morphologie, die Größe und die

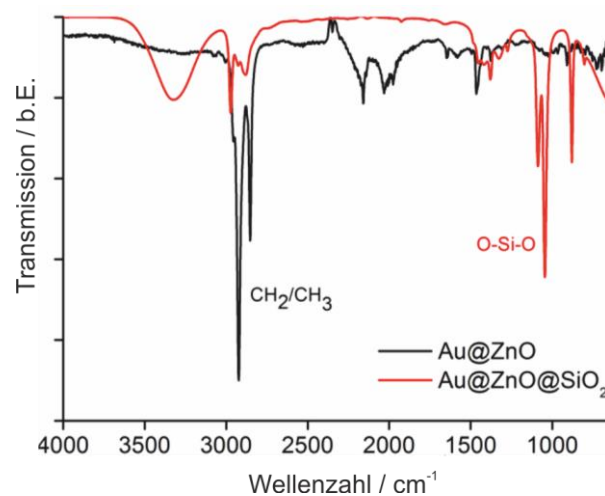


Abb. 35 ATR-FT-IR Spektren der Au@ZnO Partikel vor (schwarz) und nach der Silica-Ummantelung (rot), die O-Si-O-Streckschwingungen zwischen 1200 und 1000 cm⁻¹ können der SiO₂- Hülle zugeordnet werden. aus (188)

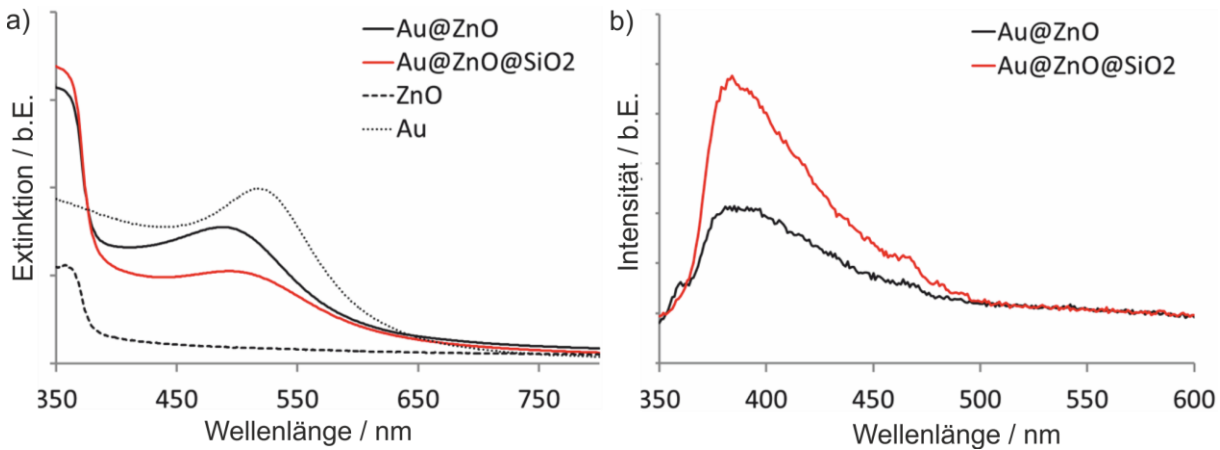


Abb. 36 (a) UV-Vis Spektren der Au@ZnO@SiO₂- Nanostäbchen und derer Komponenten, deutlich zu erkennen ist die Rotverschiebung des Maximums der Silica funktionalisierten Janus-Partikel im Vgl. zu den Au@ZnO Partikeln, (b) deutliche Intensitätszunahme der Photolumineszenz nach der Silica-Funktionalisierung bei einer Anregung der ZnO-Komponente bei 325 nm, übernommen aus (188)

Oberflächenfunktionalisierung (201) (202) und zeigt für die Au@ZnO- Nanopartikel eine Blauverschiebung der Au-Komponente um 25 nm, welche auf die Wechselwirkung der Plasmonen mit dem ZnO-Halbleitermaterial und der damit verbundenen Ladungsverteilung zurückzuführen ist. (162) Bemerkenswert ist die erneute Rotverschiebung der Plasmonenbande um 4-5 nm nach der Invertierung der hydrophoben ZnO-Domäne, welche auf die durch das verwendete polare Lösungsmittel induzierte Aggregation der Heterodimere über die Au-Domäne erklärt werden kann. (156) Die über die Au-Nanodomänen stattfindende hydrophobe Wechselwirkung der Partikel in polaren Lösungsmitteln wurde weiterhin mittels DLS untersucht. Dazu wurden zum einen die Partikel-Aggregate in polaren Lösungsmitteln wie Millipore-Wasser, Ethanol und Chloroform vermessen und zum anderen eine *in situ* Funktionalisierung der Au-Domäne mittels 11-Mercaptoundecanonsäure (11-MUA) in Ethanol und deren Aggregationsverhalten über Wasserstoffbrückenbindungen untersucht. Dazu wurden Nanopartikellösungen mit einer Konzentration von ca. 0.2 g/L im jeweiligen Lösungsmittel bei fünf verschiedenen Winkeln im Bereich von $30^\circ \leq \theta \leq 150^\circ$ vermessen (Abb. 37). Die DLS-Messungen wurden im Folgenden mit einem Uniphase He/Ne Laser (632.8 nm, 22 mW), einem ALV-SP125 Goniometer, einer ALV/High QE APD-Avalanche Photodiode, einem ALV 5000/E/PCi-Korrelator und einem Lauda RC-6 Thermostat durchgeführt. Zur DLS-Messung der zylindrischen Au@ZnO@SiO₂-Stäbchen, deren Länge L durch TEM-Aufnahmen zu 60 nm bestimmt wurde, ergibt sich so für die Streuvektoren q ein qL -Regime von $qL \leq 1.5$. Für alle qL -Werte < 3 können die Rotationsbeiträge vernachlässigt werden, sodass nur der

Translations-Selbstdiffusionskoeffizient beachtet werden muss. (203) Bei größeren Werten müsste in depolarisierter Optik gemessen werden (DDLS). Der für anisotrope Partikel zu erwartende Selbstdiffusionskoeffizient kann in Abhängigkeit des Aspektverhältnisses p (L/d) der Stäbchen nach Tirado und Garcia de la Torre (204) wie folgt berechnet werden

$$D_s = \frac{kT}{3\pi\eta L} (\ln p + v) \quad (2.15)$$

mit dem Parameter

$$v = 0.312 + \frac{0.565}{p} - \frac{0.1}{p^2} \quad (2.16)$$

Für die Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen ergibt sich mit einem Partikeldurchmesser d von 10 nm ein Aspektverhältnis von $p = 6$ mit dem Parameter $v = 0.4$. Durch Anwendung der Stokes-Einstein-Gleichung (2.14) ergibt sich für den kalkulierten hydrodynamischen Radius

$$R_H = \frac{L}{2(\ln p + v)} \quad (2.17)$$

somit ein Wert für $R_H = 14$ nm. Um Polydispersität zu berücksichtigen, wurden die Autokorrelationsfunktionen wie folgt biexponentiell angefitet (205)

$$g_1(q, \tau) = a_1 e^{-D_1 q^2 \tau} + a_2 e^{-D_2 q^2 \tau} \quad (2.18)$$

wodurch sich der für polydisperse Proben winkelabhängige apparente Diffusionskoeffizient nach

$$\langle D_{app} \rangle = \frac{a_1 D_1 + a_2 D_2}{a_1 + a_2} \quad (2.19)$$

ergibt. Durch Auftragung von D_{app} nach q^2 und Extrapolation von D_{app} für $q \rightarrow 0$ erhält man das Z-Mittel des Selbstdiffusionskoeffizienten $\langle D_s \rangle_Z$ und nach Stokes-Einstein den hydrodynamischen Radius (Abb. 37c). Durch Extrapolation wurde so ein Wert für den hydrodynamischen Radius von $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 74$ nm erhalten. Die Diskrepanz zu den errechneten 14 nm für einzelne Partikel lässt auf mizellares Verhalten der Partikel in Lösung schließen, welches aufgrund der monoexponentiellen Abklingfunktionen relativ homogen zu sein scheint (Abb. 37b).

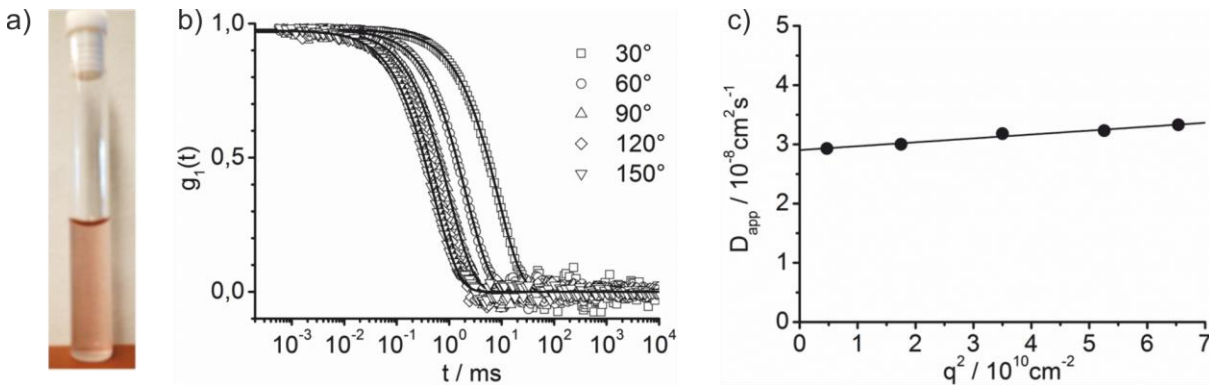


Abb. 37 (a) Au@ZnO@SiO₂-Lösung in Millipore Wasser ($c = 0.2 \text{ gL}^{-1}$, $T = 293 \text{ K}$, $\eta = 1.005 \text{ cP}$), (b) Amplitudenkorrelationsfunktionen mit biexponentiellen Fitfunktionen (Linien), (c) Winkelabhängigkeit des Selbstdiffusionskoeffizienten zeigt relativ monodisperses Verhalten, übernommen aus (188)

Auch das nur um 5% von einer komplett winkelunabhängigen Geraden der Auftragung von D_{app} gegen q^2 abweichende Verhalten bestätigt eine geringe Polydispersität. Interessanterweise sind die monodispersen mizellartigen Aggregate trotz der negativen Oberflächenladung der Silica-Hülle bei neutralen pH-Werten (206) von Coulomb/Coulomb-Wechselwirkungen unabhängig, da sich auch unter geringen Salzkonzentrationen (50 mM TBS-Puffer, 5 mM NaCl-Lösung) dieselben Werte für R_H ergeben. Ähnliches Aggregationsverhalten erhält man für die Lösemittel Ethanol und Chloroform (Abb. 38). Die dazugehörigen TEM-Aufnahmen (Abb. 38c-e) der Lichtstreu-Lösungen zeigen ebenso ein Aggregationsverhalten der Nanostäbchen über die Au-Domäne, während sie in unpolaren Lösungsmitteln separiert vorliegen. Die D_{app} -Werte für die Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen in Ethanol zeigen nur eine geringe Winkelabhängigkeit, die nach der Funktionalisierung mit 11-MUA noch monodisperser werden und auf wohl definierte Mizellen hindeuten. Dazu wurden die Nanopartikel ($c \sim 0.2 \text{ g/L}$, $V \sim 3 \text{ mL}$, Ethanol) *in situ* in der Lichtstreu-Küvette mit 1 mL einer Millex LCR 0.45 μm gefilterten 9 mM ethanolischen 11-MUA-Lösung (2 mg/mL, 10 mM TCEP) funktionalisiert. Zur vorherigen Reduktion evtl. S-S-Bindungen wurde die 11-MUA-Lösung mit einer 10 mM Tris-(2-carboxyethyl)phosphin-hydrochlorid (TCEP)-Lösung versetzt. Nach wenigen Minuten wurde die Reaktionslösung erneut im Winkelbereich von $30^\circ \leq \theta \leq 150^\circ$ vermessen. Der hydrodynamische Radius verdoppelte sich nahezu durch die Anbindung und Wechselwirkung der 11-MUA Moleküle an die Au-Domäne von $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 101 \text{ nm}$ auf $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 173 \text{ nm}$ (Abb. 38b). Die Verdopplung des hydrodynamischen Radius

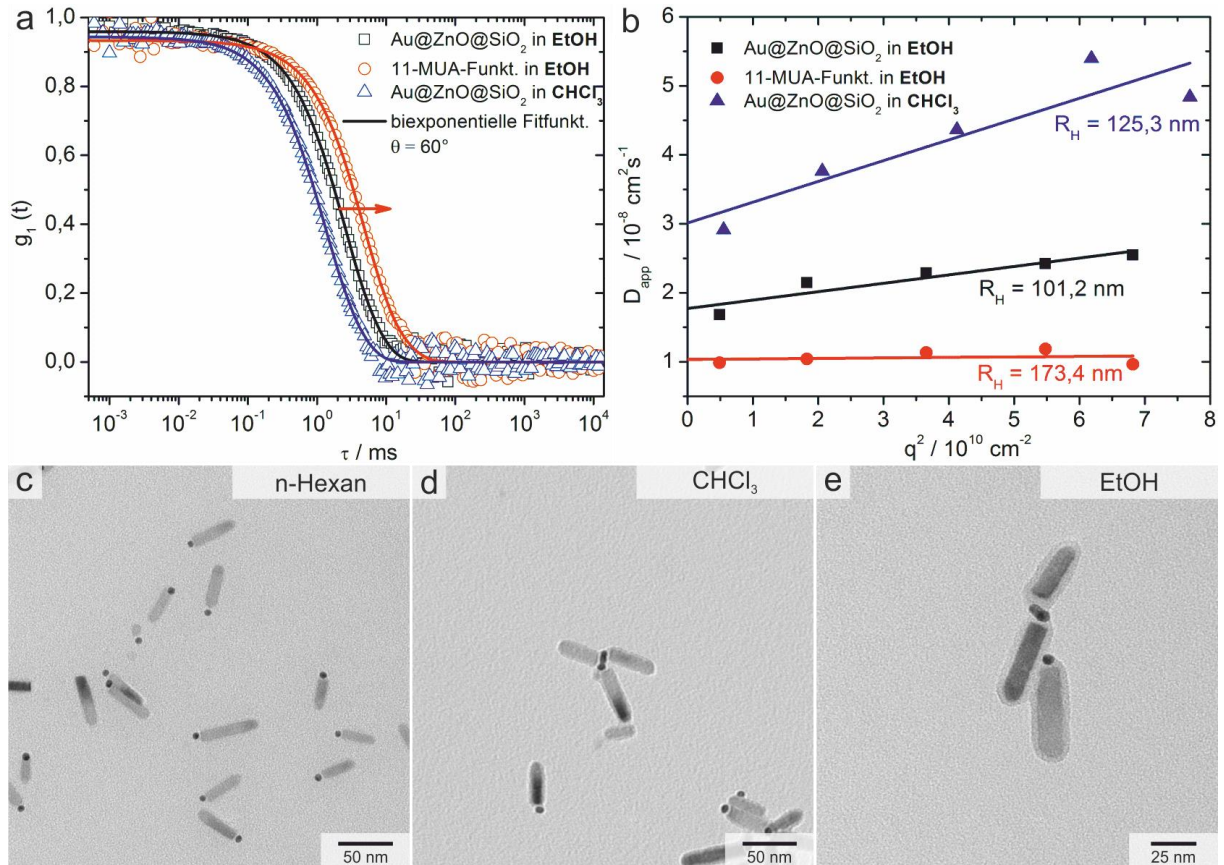


Abb. 38 Aggregationsverhalten der mit 11-MUA *in situ* funktionalisierten Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen in EtOH (schwarz und rot), dazu Vergleich der Selbstaggregation in CHCl₃ (blau); (a) Autokorrelationsfunktionen bei $\theta = 60^\circ$, (b) Winkelabhängigkeit von D_{app} , (c-d) TEM-Aufnahmen der Lösungen aus der DLS-Küvette

deutet auf eine Dimerisierung über Wasserstoffbrückenbindungen der Carbonsäuregruppen hin, da 11-MUA in Ethanol protoniert vorliegt. (207) Der amphiphile Charakter der Januspartikel wurde weiterhin mittels Langmuir-Blodgett (LB)-Trog Messungen bestätigt. Die bereits von Glaser et al. für Gold@Eisenoxid-Heterodimere gezeigte erhöhte Grenzflächenaktivität in Bezug auf die homogenen Analoga an einer n-Hexan/Wasser-Grenzfläche (148) konnte für die mittels DLS-Messung untersuchte Au@ZnO@SiO₂-Probe bestätigt werden (Abb.39a). Trotz der bereits in Chloroform vorhandenen Aggregationsbereitschaft ordnen sich die Januspartikel ohne weitere Verstärkung der Amphiphilie durch Alkylthiole an einer Chloroform/Wasser-Grenzfläche zu einer Monolage an. Dieses Verhalten steht ebenfalls im Einklang mit einer in Wasser stabilen ZnO/SiO₂-Domäne und einer in Chloroform stabilen Oleylamin funktionalisierten Au-Domäne. Der Polaritätsunterschied der beiden Lösemittel sorgt hier für eine Ausrichtung der anisotropen Partikel an der Grenzfläche, wie schematisch in Abb.39b dargestellt. Für die LB-Trog-Messung wurden zwei Zyklen gefahren. Die Oberflächenspannung beim zweiten Zyklus (rot) unter Addition von weiteren 15 μL Nanopartikellösung verhält sich hierbei nahezu identisch zum ersten Zyklus, wobei die Fläche

auf das Partikelvolumen normiert wurde. Aus der Reproduzierbarkeit der Messungen ergibt sich, dass die Nanopartikel eine stabile Monolage an der Chloroform/Wasser Grenzfläche ausbilden und bei der ersten Kompression nicht instabil werden oder sich unter Aggregation in Wasser lösen. Die erhaltenen Isothermen stimmen recht gut mit denen von Glaser et al. überein. (148) Die molekulare Selbstanordnung der Heterodimere konnte zudem über Plasmonenresonanzspektren der Au-Domänen mittels Dunkelfeldmikroskopie detektiert werden. Für eine aussagekräftige Statistik wurden mehr als

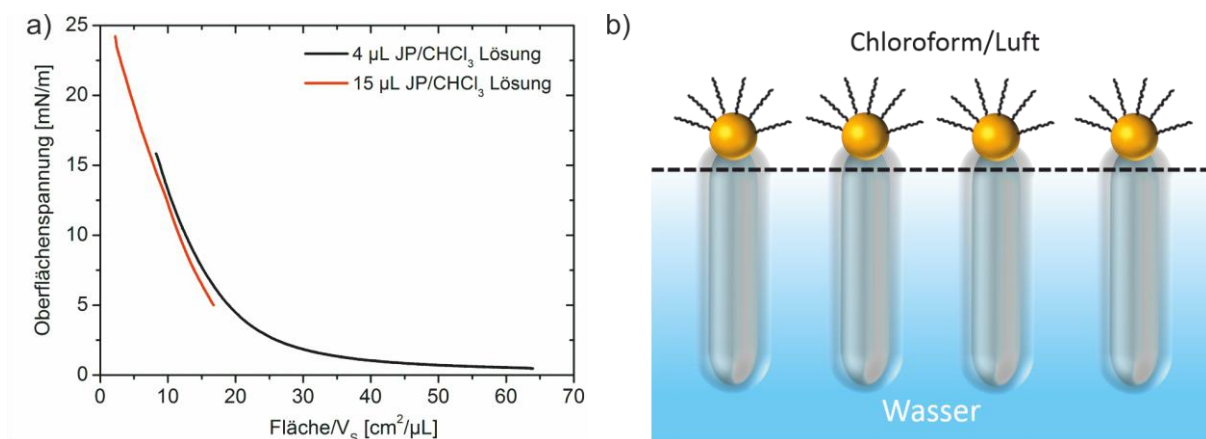


Abb. 39 (a) LB-Trog Messung der Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen an einer Chloroform/Wasser Grenzfläche, die rote Isotherme ist eine Wiederholung der schwarzen mit zusätzlicher Partikellösung, allerdings mit auf das Lösungsvolumen normierter Fläche, (b) Modell einer Monolage der amphiphilen Januspartikel an der Chloroform/Wasser Grenzfläche

30 Einzelpartikel-Streuspektren entsprechend dem in der Literatur verwendeten Verfahren aufgenommen. (208) Die Amplitude besteht in jedem der aufgenommenen Spektren aus zwei sich überlagernden optischen Moden mit relativ ähnlichen Resonanzpositionen, wodurch sich ein sehr einheitliches Aggregationsverhalten zu völlig symmetrischen Trimeren ableiten lässt (Abb. 40). Diese bimodale Form wurde auch von Brandl et al. für sphärische Ag-Trimere beschrieben. (209) Das dafür verwendete Plasmonenhybridisierungsmodell basiert auf der Linearkombination der einzelnen Plasmonenresonanzen. Dieses Verhalten ergänzt sehr gut die Resultate aus der dynamischen Lichtstreuung, da auch hier der Zustand aus der Lösung heraus ohne Eintrocknungseffekte untersucht werden kann. Diese beiden Methoden beschreiben das eigentliche in Lösung vorhandene Aggregationsverhalten deutlich treffender als die dazugehörigen TEM-Aufnahmen, wobei auch diese die Resultate unterstützen. Neben dem amphiphilen Verhalten besitzen die Nanopartikel wie bereits oben erwähnt besondere spektroskopische Eigenschaften.

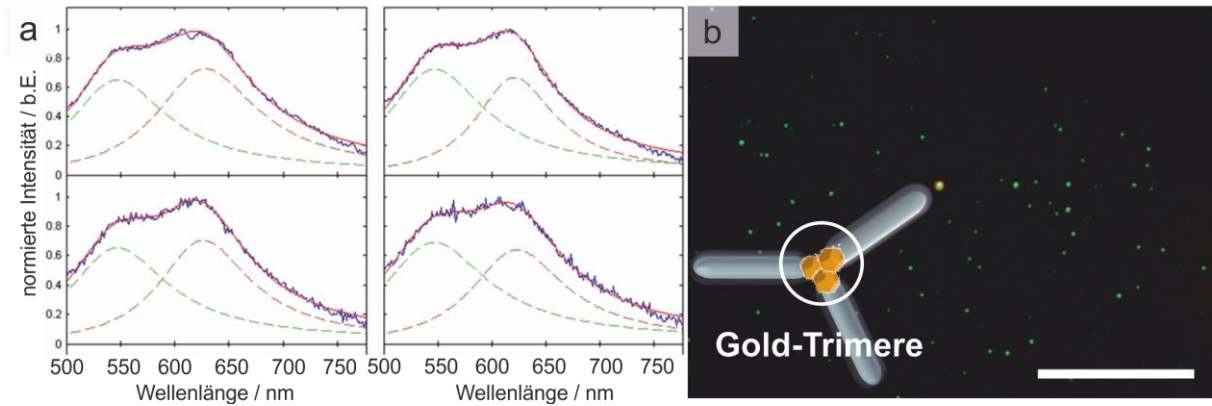


Abb. 40 (a) Vier representative Dunkelfeld-mikroskopische Einzelmolekülstreuungsspektren (blau) mit Lorentz-Fitfunktion (rot) als Superposition zweier einzelner Moden (ebenfalls Lorentz-Fit), (b) DFM-Aufnahme der untersuchten Partikeltrimere, Skala: 20 μm , aus (188)

Von Gold-Nanopartikeln ist bekannt, dass sie eine intensive zwei-Photonen Photolumineszenz besitzen. (210) (211) (212) Die grüne Emission von ZnO bei 510 nm stammt von einfach V_O^+ oder zweifach V_O^{2+} ionisierten Sauerstoffdefektstellen, von Zink-Fehlstellen oder Zwischen-gitterplätzen. Aufgrund des sehr großen Oberfläche/Volumen-Verhältnisses der Nanopartikel erleiden die Partikel eine relativ starke Abnahme der freien Ladungsträger an der Partikeloberfläche, welche somit einen erheblichen Einfluss auf die Photolumineszenzintensitäten hat. (213) Daher besitzen die Silica geschützten ZnO-Domänen eine deutlich intensivere Photolumineszenz als die ungeschützten (Abb. 36b). (214) Neben der grünen Emission zeigt ZnO eine große Bandbreite weiterer möglicher Emissionsbereiche, wie eine gelb/orange Emission, die auf einen Sauerstoffüberschuss zurückzuführen ist (215) (216), einer blauen Emission bei 468 nm, einer Ultra-violetten (382 nm) und einer roten Emission bei 672 nm. (217) Die Emissionsspektralbereiche sind zum einen von der Anregungswellenlänge, von der Morphologie der Partikel und von deren Herstellungsmethoden abhängig. Die verschiedenen Einflüsse dieser Parameter auf die Spektralbereiche finden sich bei Djuricic et al. (218) Die Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen zeigten bei einer Anregung von 325 nm eine starke Emission im UV-Bereich (385 nm) und eine geringere blaue Emission (468 nm), beide wurden durch die SiO₂-Hülle verstärkt, somit sind beide von der Oberflächenmodifikation der ZnO-Partikel abhängig. In der Literatur finden sich die gleichen Emissionsregime für hexagonale ZnO-Nanostäbchen, das Fehlen der grünen Emission lässt auf ein relativ defektfreies Material schließen. (219) ZnO kann zudem mittels Multi-Photonen Absorption angeregt werden (220) (221) (222) Zur Untersuchung der 2-Photonenaktivität wurden die Januspartikel mit einem Coherent Chameleon Ultra II Ti:Saphir Laser mit 70%iger Laserleistung (2352 mW) im Infraroten bei 832 nm angeregt. Die emittierte Fluoreszenz wurde

mittels dreier Bandpassfilter im Bereich von 455-500, 500-550 und 610-656 nm detektiert (Abb. 41). Auf allen drei Kanälen wurde dieselbe Laserleistung verwendet. Die drastisch verstärkte Emission im 455-500 nm Wellenlängenbereich ist auf die im Photolumineszenzspektrum (Abb. 36b) sichtbare blaue Emission bei 468 nm zurückzuführen, sodass neben der Fluoreszenz durch die Gold-Domäne eine weitere im blauen bis ultravioletten Bereich dazukommt. Dadurch zeichnen sich die Partikel als Breitband-Markierer im sichtbaren wie im UV-Bereich aus, die im Gegensatz zu organischen Fluoreszenzfarbstoffen kein Ausbleichen erleiden. Des Weiteren lassen sich über die Silica-Hülle organische Fluoreszenzfarbstoffe wie FITC einbauen, sodass das optische Nachweisspektrum

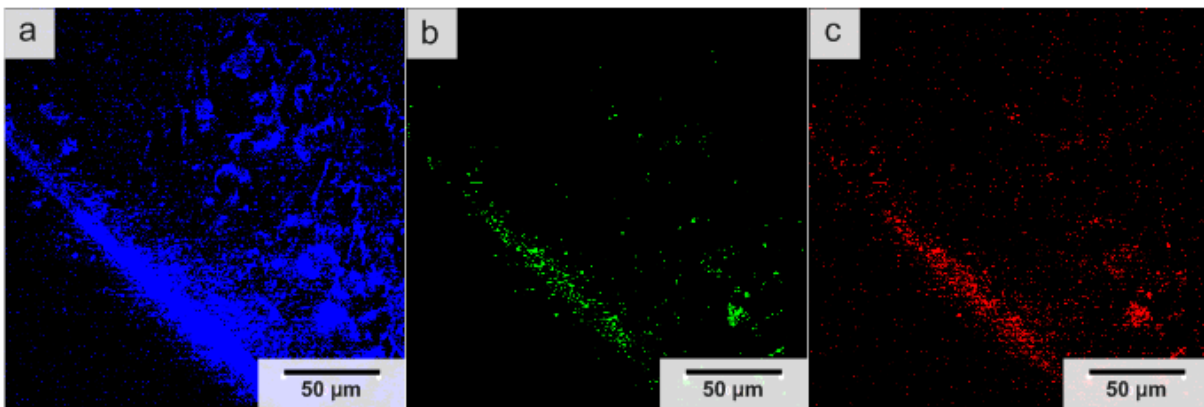


Abb. 41 Zwei-Photonen induzierte Emission der Au@ZnO@SiO₂-Nanopartikelaggregate detektiert durch 455-500 (a), 500-550 (b) und 610-656 nm (c) Bandpassfilter nach Anregung bei 832 nm, aus (188)

der Partikel gezielt eingestellt werden kann (Abb. 42). Abschließend lässt sich sagen, dass sich die Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen als anisotrope, multifunktionelle Partikel eignen, die aufgrund ihrer amphiphilen Funktionalisierung mizellare Eigenschaften besitzen und sich für evtl. Verwendungen als Kristallisationsadditive nachträglich beliebig modifizieren lassen. Aufgrund ihrer hohen Anisotropie und ihrer amphiphilen Funktionalisierung zeigen die Nanostäbchen eine ausgeprägte molekulare Selbstanordnung. Ein Nachteil dieser Partikel ist jedoch die relativ hohe Empfindlichkeit der ZnO-Domäne gegenüber extremen pH-Werten aufgrund von Mikroporen in der Silicahülle.

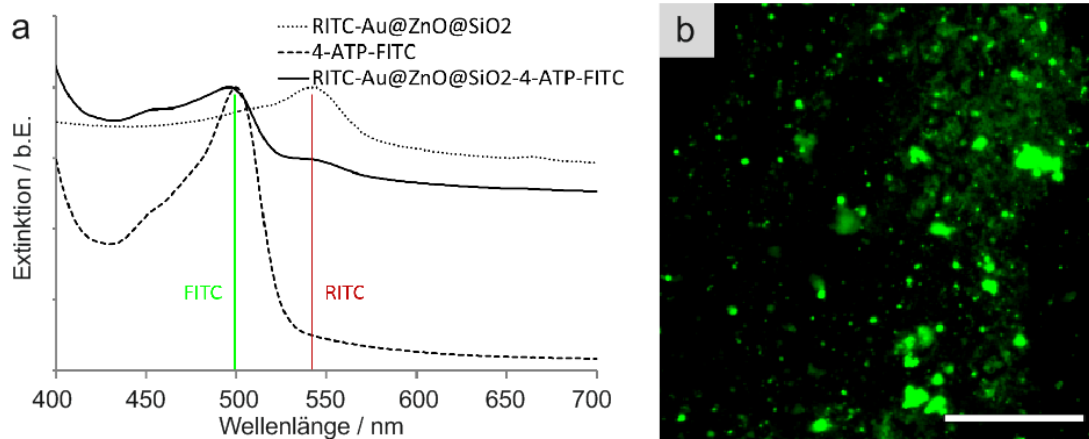


Abb. 42 (a) UV-Vis-Spektren der Farbstoffadsorption von FITC und RITC an die Silicahülle, (b) Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme der FITC-funktionalisierten Au@ZnO@SiO₂ Nanopartikelaggregate mit einer Anregungswellenlänge von 490 nm; Skala: 50 μ m, aus (188)

2.4.2 Funktionalisierung der Au@Fe_xO_y Janus-Partikel

Für die Synthese der Nanopartikel der allgemeinen Form Au@Fe_xO_y wurden zwei verschiedenartige Syntheseverfahren verwendet, um zum einen Nanopartikel mit sphäroider und zum anderen mit verzweigter Morphologie zu erhalten, die aufgrund ihres Aussehens als „flower-like“ bezeichnet werden. In erster Linie kann die spätere Morphologie durch die Polarität des Lösungsmittels beeinflusst werden. Die an der Grenzfläche zur Metalloxid-Domäne auftretende induzierte Ladung muss von der Au-Domäne kompensiert werden, wodurch die Au-Facetten an negativer Ladung verarmen. Dadurch wird polynukleares Wachstum an der Gold-Domäne unterdrückt. (135) Polarere Lösungsmittel wie Benzylalkohol können dieses Elektronendefizit kompensieren, sodass mehrfache heterogene Keimbildung auf den Saatkeimkristallen stattfinden kann, wodurch die verzweigte Morphologie zustande kommt. Dagegen reicht die Donoreigenschaft der einzelnen π -Bindung in 1-Octadecen nicht aus, um den Elektronenmangel zu kompensieren, was zur Ausbildung von sphäroiden und Kern/Schale-Morphologien führt. (223) Neben den Lösemittelfaktoren scheint auch die Polykristallinität der Au-Saatkeime eine ebenso wichtige Rolle zu spielen. Wei et al. kontrollierten das heterogene epitaktische Aufwachsen der Metalloxiddomänen allein durch das Precursorenverhältnis von Fe/Au und die Reaktionszeiten und stellten dagegen keinen Einfluss durch die Polarität des Lösungsmittels fest. Die Autoren spekulieren, dass zwischen den mehrfach verzwilligten einkristallinen Au-Domänen ein nur unzureichender elektronischer Austausch stattfindet, sodass auf jeder dieser eine einkristalline Fe₃O₄-Domäne aufwachsen kann. (224) Die im Folgenden beschriebenen Au@Fe_xO_y „nanoflowers“ wurden durch

Saatkeim vermitteltes Aufwachsen auf in situ hergestellten 9 nm Au-Kolloiden in Benzylalkohol erhalten (Abb. 43a), die sphäroiden Au@Fe₃O₄-Partikel durch Verwendung von 1-Octadecen (ODE) mit zuvor synthetisierten 4 nm Au-Nanokristallen (Abb. 43b).

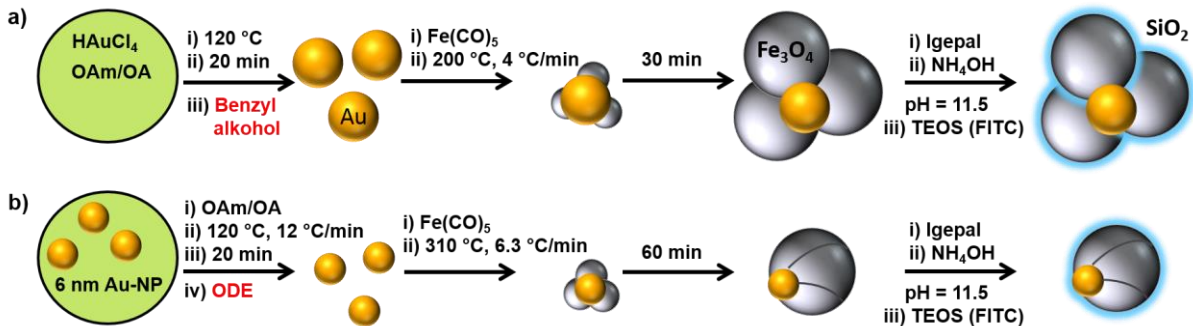


Abb. 43 (a) Syntheseroute der verzweigten Au@Fe_xO_y-„nano-flowers“ mittels in situ hergestellten Au-Keimen und polarem Lösemittel und (b) Au@Fe₃O₄ durch 4 nm Au Nanopartikel vermitteltes Wachstum in 1-Octadecen (ODE)

Neben den Polaritätsunterschieden führte eine längere Reaktionszeit zum Zusammenwachsen der einzelnen Fe₃O₄-Domänen, wodurch die sphäroide Morphologie entsteht. Leider konnten von diesen Partikeln keine hochaufgelösten TEM-Aufnahmen angefertigt werden, allerdings ist bekannt, dass die Gitterparameter des kubisch-flächenzentrierten Goldkeims ($a = 4.08 \text{ \AA}$) und des kubischen Gitters von Fe₃O₄ ($a = 8.35 \text{ \AA}$) gut übereinstimmen (Faktor ~ 2) (135), genauer gesagt, dass epitaktisches Wachstum der Fe₃O₄ {111} Flächen ($d = 4.88 \text{ \AA}$) auf den {111} Flächen von Au ($d = 2.42 \text{ \AA}$) stattfindet. (224) Die in den TEM-Aufnahmen für die sphäroiden Heterodimere sichtbaren Grenzflächen zwischen den einzelnen Fe₃O₄-Domänen deuten in Übereinstimmung mit der Literatur darauf hin, dass das Aufwachsen von Fe₃O₄ auf den polykristallinen Au-Saatkeimen zu mehreren mutmaßlich einkristallinen Domänen führt, welche aufgrund der längeren Reaktionszeit zusammengewachsen sind (Abb. 44c). (224) Im Fall der „nanoflowers“ mit verzweigter Morphologie fällt die hexagonale Gestalt der Fe_xO_y-Domänen auf, was auf die Phase Hämatit (α -Fe₂O₃) mit der ditrigonal-skalenoedrischen Kristallklasse $\bar{3} 2/m$ deuten könnte. Eine genaue Phasenanalyse steht allerdings noch aus und war für die hier untersuchten Zwecke nicht von entscheidender Bedeutung. Zur Verwendung in wässrigen Systemen als Kristallisationsadditive wurden die Nanopartikel wiederum mit einer 2 nm dicken SiO₂-Hülle funktionalisiert, um deren kolloidal stabile Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln zu garantieren. Hierbei zeigte sich analog zu den Au@ZnO-Nanostäbchen eine selektive Einkapselung der Metalloxid-Domänen zumindest für die verzweigten Januspartikel,

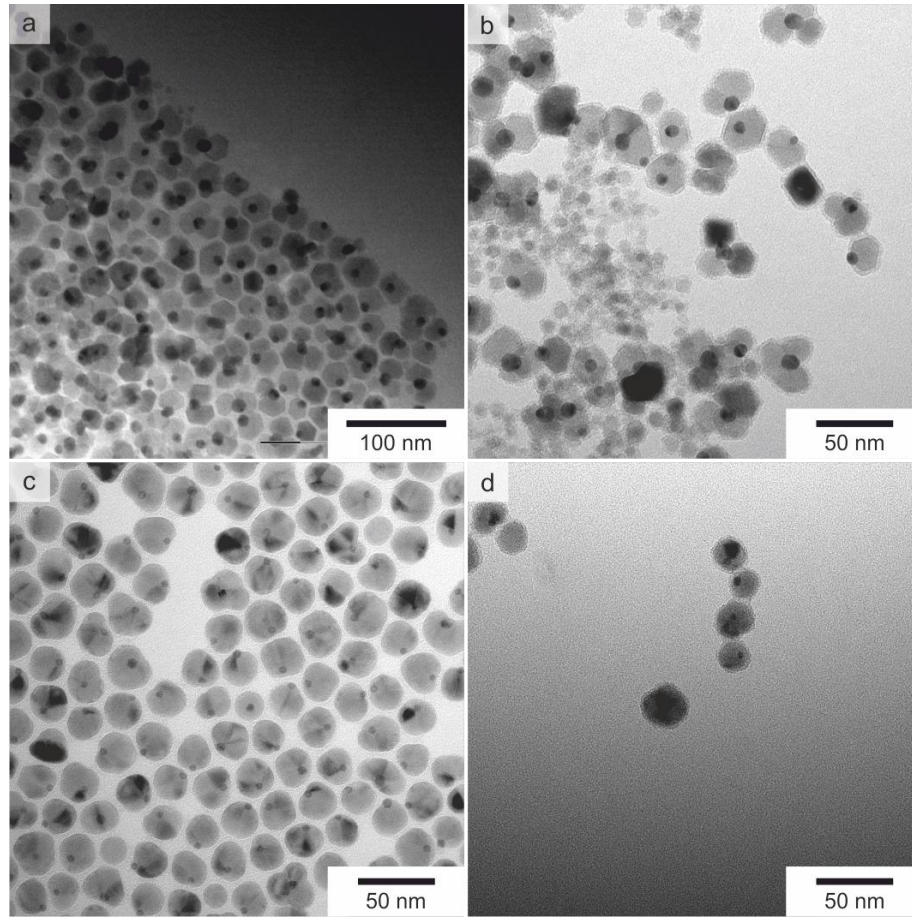


Abb. 44 (a) Au@Fe_xO_y-Heterodimere mit blütenartiger Morphologie und (c) Au@Fe₃O₄-Sphäroide mit erkennbaren verschiedenen zusammengewachsenen Fe₃O₄-Domänen, (b,d) Nanopartikel mit zusätzlicher 2 nm SiO₂-Hülle mit im Fall von (b) selektiver Hülle ausschließlich um die Metalloxid- und freier Au-Domäne

die im Gegensatz zur Literatur (vgl. (187)) keine stabilisierenden Thiol-Liganden auf der Au-Domäne benötigten (Abb. 44b). Für diese Selektivität scheint die relativ große Au-Domäne und die im Vergleich dazu dünne Silica-Hülle von nur 2 nm ausreichend zu sein, die dennoch eine gute Wasserlöslichkeit garantiert. Zur weiteren Charakterisierung der Silica-Funktionalisierung wurden die Au@Fe₃O₄-Nanosphäroide mittels dynamischer Lichtstreuung untersucht. Für die Größenbestimmung wurden 3 mL einer 0.1 g/L konzentrierten Lösung der Partikel in n-Hexan im Bereich von $30^\circ \leq \theta \leq 150^\circ$ bei 20 °C vermessen. Die Partikellösung wurde in die LS-Küvette durch einen Millex LCR 0.45 µm Filter gegeben. Durch Anwendung der Stokes-Einstein-Gleichung ergab sich aus dem Z-Mittel des Selbstdiffusionskoeffizienten $\langle D_s \rangle_z$ für $q \rightarrow 0$ ein hydrodynamischer Radius von $\langle 1/R_H \rangle_z^{-1} = 14$ nm. Dieser stimmt mit dem aus der TEM-Statistik durch Messen von 50 Partikeln erhaltenen Durchmesser von $d = 24$ nm relativ gut überein. Die Auftragung von D_{app} gegen q^2 zeigt eine fast zu vernachlässigende Winkelabhängigkeit, was für eine sehr geringe Polydispersität spricht. Durch die Bildung der SiO₂-Hülle mittels reverser Mikroemulsion und Funktionalisierung mit 11-MUA verdoppelt

sich $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1}$ auf 26 nm. Dies kann theoretisch zwei Ursachen haben. Entweder kommt es wie im Falle der Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen zu einer durch Wasserstoffbrücken der 11-MUA induzierten Dimerisierung. Die wahrscheinlichere Ursache liegt allerdings in einer durch die reverse Mikroemulsion gesteuerte einheitliche Silica-Hülle zweier oder mehrerer Partikel, wodurch diese verbunden werden, so wie dies die TEM-Aufnahmen in Abb. 45 (d) implizieren. Um eine Anbindung der 11-MUA-Liganden an eine evtl. frei adressierbare Au-Domäne zu überprüfen, wurden die potentiell 11-MUA-Au@Fe₃O₄@SiO₂ funktionalisierten Nanopartikel ($c = 0.2 \text{ g/L}$) in einer auf $\text{pH} = 8$ eingestellten wässrigen 1 mM NaBr-Lösung in dem oben angegebenen Winkelregime mittels DLS vermessen. Unter diesen Bedingungen sollte die 11-Mercaptoundecanonsäure deprotoniert vorliegen. Titration mit einer CaCl₂-Lösung (Endkonzentration der LS-Lösung $c_{\text{Ca}^{2+}} = 10 \text{ mM}$) ergab jedoch kaum eine Größenveränderung in Lösung (Abb. 45b). Dieses Verhalten lässt sich nur mit einer vor der Ca²⁺-Zugabe vorhandenen Dimerisierung erklären. Trotz ihrer sehr geringen Polydispersität eignen sich die sphäroiden Partikel nur bedingt als Kristallisationsadditive über einen evtl. durch die 11-Mercaptoundecanonsäure vorhandenen „Anker“ zu Calciumcarbonat, da dies in diesem Fall nicht klar bewiesen werden konnte. Dagegen zeigten die verzweigten Partikel mit der größeren Au-Sphäre bessere Ergebnisse, da diese den TEM-Aufnahmen nach noch adressierbar ist. Das Größenverhältnis der Au- zur Metalloxiddomäne spielt auch für den spektroskopischen Nachweis der Partikel eine wichtige Rolle. Das molare Verhältnis der eingesetzten Precursoren $\chi = [\text{Fe}]/[\text{Au}]$ beträgt für die sphäroiden $\chi = 25$ und für die verzweigten Heterostrukturen $\chi = 8$. Dieses hat Auswirkungen auf die spektroskopischen Eigenschaften der Partikel. In Übereinstimmung mit Yu et al. besitzen die 4 nm Au-Kolloide ein Extinktionsmaximum der Plasmonenresonanz bei ca. 514 nm, während das Gold-Plasmon der verzweigten Januspartikel um knapp 70 nm rotverschoben ist. Ursache für diese Rotverschiebung ist der durch die Eisenoxid-Domänen induzierte Elektronenmangel am Gold. (135) (202) Zudem erkennt man eine drastische Absenkung und Verbreiterung der Plasmonenresonanz. Besonders für die sphäroiden Januspartikel ist diese kaum noch erkennbar (Abb. 46a). Ursache für diese Effekte ist das Tunneln von Leitungsbandelektronen am Au in elektronische Zustände des Metalloxids, wodurch Inkohärenz mit der Plasmonenresonanz eintritt. Diese Grenzflächendämpfung ist der Grund für die Verbreiterung und die Dämpfung der Plasmonen. (225) (226) Dieselben Resultate werden auch von Wei et al. erhalten. (224) Die Plasmonenintensitäten spiegeln somit auch das Precursorenverhältnis für beide Januspartikel-Morphologien wieder.

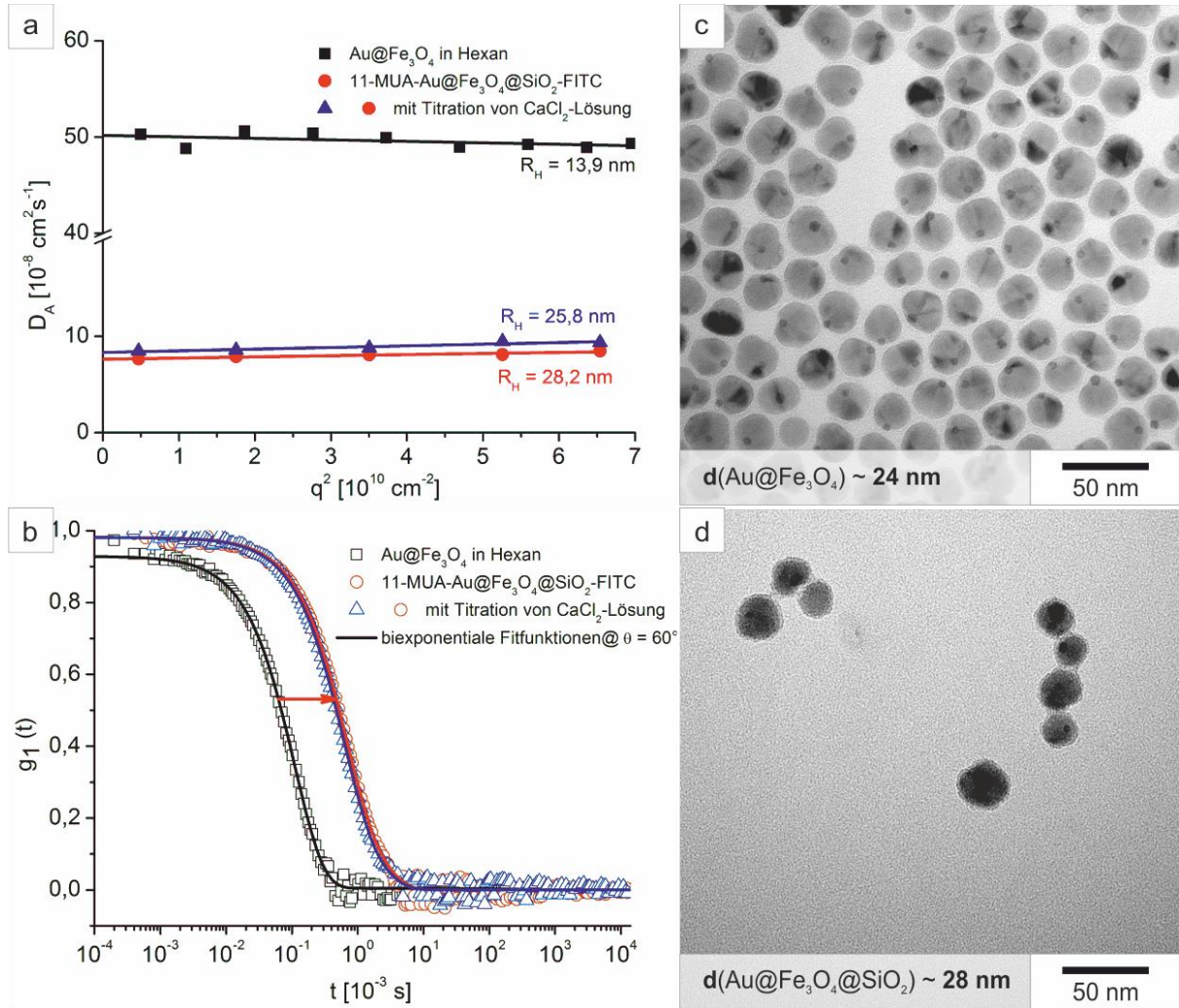


Abb. 45 (a,b) Die Ergebnisse der dynamischen Lichtstreuung für die sphäroiden monodispersen $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4\text{@SiO}_2$ Heterostrukturen zeigen kaum einen Einfluss der Aggregation über komplexierende Ca^{2+} -Ionen der 11-MUA-Funktionalisierung, (c,d) TEM-Aufnahmen der unfunktionalisierten (c) und der mit einer 2 nm SiO_2 -Hülle versehenen Partikel (d), der durch die TEM-Aufnahmen ermittelte Durchmesser d ist jeweils am unteren Rand angegeben

Zur späteren Identifizierung in Kompositkristallen besteht somit für die sphäroiden Partikel hauptsächlich die Möglichkeit des Einbaus von Fluoreszenzfarbstoffen in die Silica-Hülle der Metalloxiddomäne. Für zwei verschiedene Farbstoffe (FITC, Cy5-NHS-Ester) konnte der Einbau realisiert werden (Abb. 46b). Der FITC-Farbstoff hat ein Anregungsmaximum bei 492 nm und Cy5 bei 646 nm. Der Nachteil dieser Farbstoffe ist jedoch deren Photobleichbarkeit im Gegensatz zu den Au-Plasmonen. Neben dem Einbau von Farbstoffen lassen sich die Silica-Hüllen auch gezielt mit Proteinen auf der Oberfläche funktionalisieren. (227) Diese Bindungsaffinität beruht auf elektrostatischen Kräften wie Coulomb-Coulomb oder van-der-Waals- Wechselwirkungen. (228) Im konkreten Fall wurden die sphäroiden $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4\text{@SiO}_2$ -

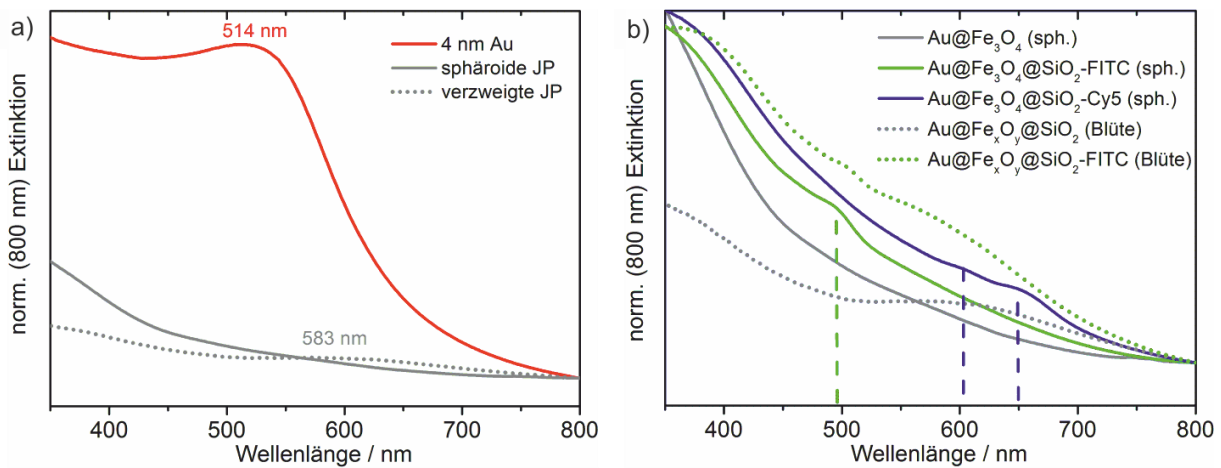


Abb. 46 (a) UV-Vis-Spektren der Plasmonenresonanzen der 4 nm Au-Saatkeime im Vergleich mit den sphäroiden und verzweigten Januspartikeln (JP), (b) eingebaute Fluoreszenzfarbstoffe in die SiO₂-Hülle (FITC 492 nm, Cy5 646 nm); alle Spektren wurden auf die Extinktion bei 800 nm (außerhalb der Maxima) normiert

Nanopartikel mit rekombinantem Cys-Silicatein- α in 25 mM Tris-Puffer (pH = 8) inkubiert und unter dem TEM untersucht. Für einen besseren Kontrast im Elektronenstrahl wurde die Proteinkorona mit Uranylacetat angefärbt. (229) (230) (231) Das Protein liegt in Lösung in Form von Aggregaten um die 100 nm vor, wie dies auch Lichtstreuendaten zeigten. Diese sind auch auf den TEM-Aufnahmen zu erkennen (Abb. 47a-b). Das Protein lässt sich sehr gut auf Silica-Oberflächen immobilisieren, wie die TEM-Aufnahmen der so funktionalisierten Januspartikel zeigen (Abb. 47c-d). Dass es sich hierbei tatsächlich um das angefärbte Protein und nicht um die Silica-Hülle handelt, wird aus der Dicke und der Form der Korona deutlich. Während die Januspartikel vorher eine isotrope 2 nm dicke Silica-Hülle besaßen, ist die anisotrope Proteinkorona an der dicksten Stelle ca. 6 nm dick. Zudem ist auf den TEM-Aufnahmen kein ungebundenes Protein mehr sichtbar, was für eine vollständige Immobilisierung spricht. Ziel des Versuches war die ursprüngliche selektive Anbindung des Proteins an die Gold-Domäne der Janus-Partikel über die 8-fache Cystein-Endgruppe, allerdings stellte sich eine hohe Affinität der übrigen Silica-Hülle zum Protein heraus, sodass sich eine sphärische Proteinkorona bildete. Hinzu kommt noch die Größe der Protein-Aggregate, welche vor allem auf die Ausbildung von Schwefel-Schwefel-Bindungen zurückzuführen ist. Dass diese eine der Ursachen für die Aggregation ist, konnte wiederum mittels dynamischer Lichtstreuung gezeigt werden. Dazu wurden die S-S-Bindungen einer 33 mg/L Cys-Silicatein-Lösung in 50 mM Tris-Puffer mit einer 0.5 M TCEP-Lösung ($c = 20$ mM) reduziert, wodurch sich die Lösung ohne Zusetzen eines Pall GHP 0.2 μ m Filters in eine LS-Küvette filtrieren ließ. Die Probe wurde bei kleinem Streuwinkel ($\theta = 25^\circ$) gemessen, der sehr sensitiv für Aggregate ist, und ergab einen hydrodynamischen Radius von $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 6.7$ nm (Abb. 48).

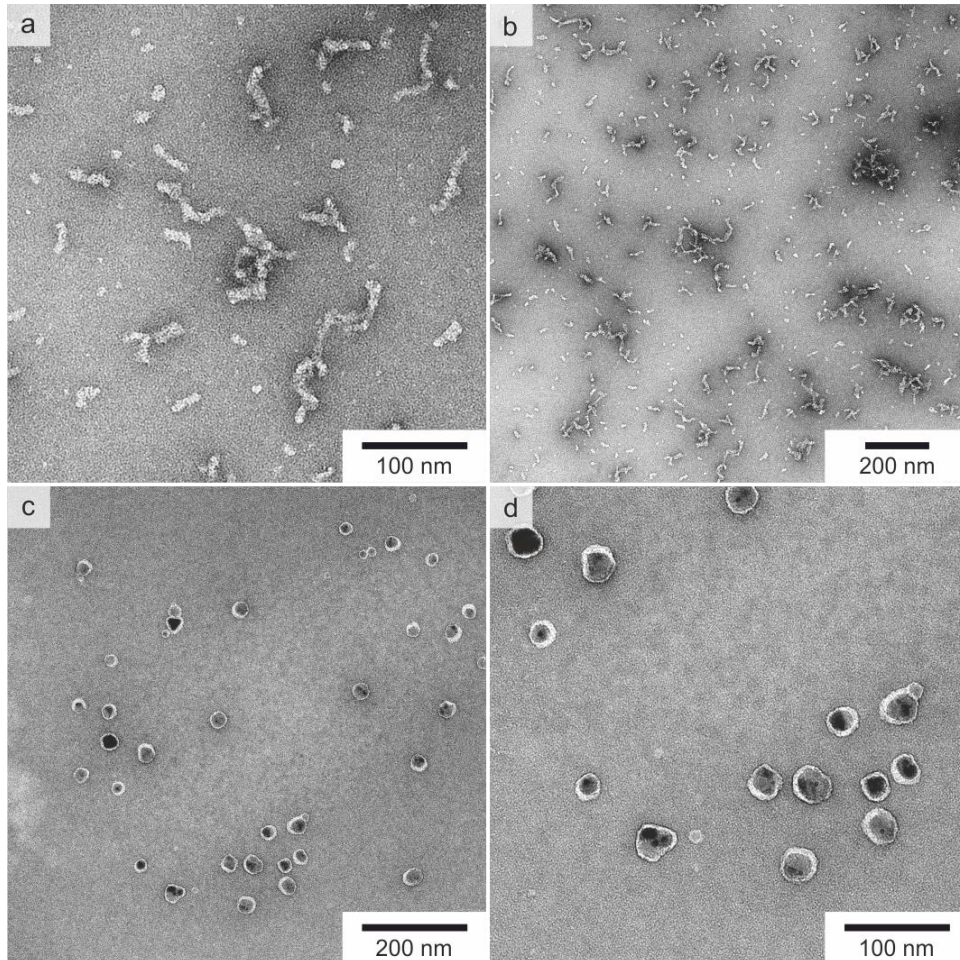


Abb. 47 (a,b) Die TEM-Aufnahmen zeigen lineare Aggregate des mit Uranylacetat angefärbten Cys-Silicatein- α , (c,d) immobilisiertes Protein auf den Silica-Schalen der sphäroiden Au@Fe₃O₄@SiO₂ Januspartikel

Dieser Wert spricht für monomeres Protein. Ohne Zusatz von TCEP setzte sich der Filter zu, für die filtrierte Probe wurde immer noch ein Wert von $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 79$ nm erhalten. Die Anbindung eines monomeren Proteins an die Januspartikel lässt sich allerdings mit der Lichtstreuung nur schwer nachweisen, da die einseitige Anbindung an die Au-Domäne wahrscheinlich unter der Nachweisgrenze liegt. In diesem Fall könnte man sich nur mit Fluoreszenzfarbstoff-markierten Antikörpern unter Einsatz von hochaufgelöster Fluoreszenzmikroskopie behelfen. Das Beispiel zeigt allerdings, dass es prinzipiell möglich ist, anorganische Heteropartikel und biologische Proben zu kolokalisieren und somit spektroskopischen Methoden zugänglich zu machen. In diesem Fall konnte die hohe Affinität eines Biosilica-produzierenden Proteins an eine sphärische 2 nm dünne Silicaoberfläche gezeigt werden. Eine weitere Möglichkeit der Funktionalisierung der Janus-Partikel mit Ca²⁺-sensitiven Molekülen ist die direkte Anbindung von AA-co-AMPS Polymeren. Wie Dietzsch et al. zeigen konnten, hat der Poly(acrylsäure)-Anteil einen nukleations-inhibierenden Effekt

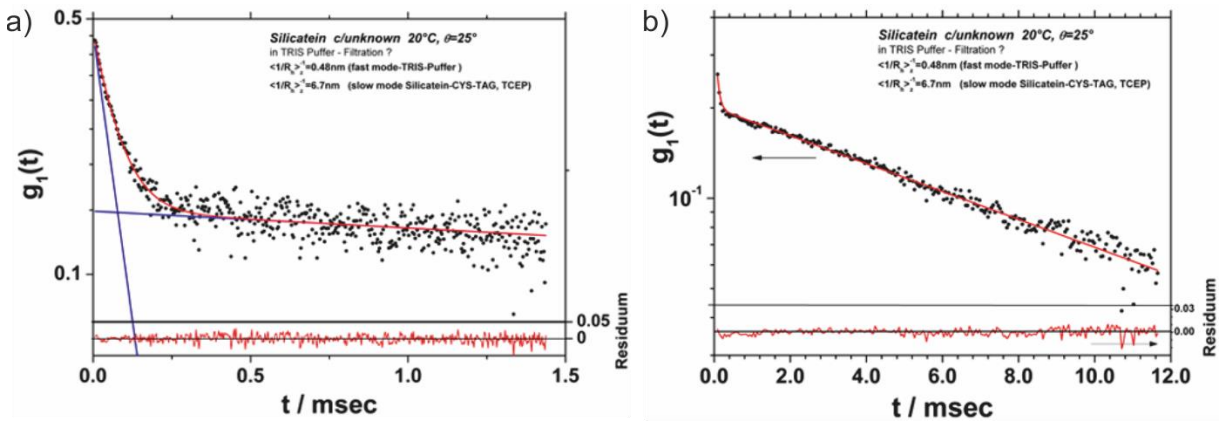


Abb. 48 Log-Lin Auftragung der bimodalen Autokorrelationsfunktion gegen die Abklingzeit mit Fitfunktionen und Darstellung der „Fast-Mode“-Komponente (a) mit $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 0.48 \text{ nm}$ für den Tris-Puffer und der „Slow-Mode“-Komponente (b) mit $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 6.7 \text{ nm}$ für das monomere Protein bei einem Streuwinkel von $\theta = 25^\circ$

auf die Bildung von Ca^{2+} -haltigen Mineralien wie CaCO_3 , während der 2-Acrylamido-2-methylpropan-sulfonat Anteil am Polymer für die Löslichkeitsvermittlung in Wasser zuständig ist. (205) Für die Funktionalisierung wurde ein $\text{AA}_{20}\text{-co-AMPS}_{80}$ -Polymer ($M_w/M_n = 8335 \text{ g/mol}/6203 \text{ g/mol}$; $\text{PDI} = 1.344$) verwendet. Der Ligandenaustausch des Polymers an der Fe_3O_4 -Domäne deutete sich durch ein Ausfallen der Nanopartikel während der Substitution der Ölsäureliganden in Chloroform an. Die höhere Affinität der Acrylsäureeinheiten lässt sich durch eine höhere Belegungsdichte der benachbarten Carboxylgruppen im Polymer auf der Partikeloberfläche und auf entropische Effekte bzgl. der freigesetzten Ölsäureliganden erklären. Nach Aufarbeitung der Partikel wurden diese mehrere Male mit leicht basischer NH_4OH -Lösung ($\text{pH} = 10$) gewaschen, um ungebundenes Polymer zu entfernen. Die Partikel zeigten danach kolloidale Stabilität in polaren Lösungsmitteln. Zum Nachweis der Anbindung wurden die Partikel mittels dynamischer Lichtstreuung charakterisiert. Durch die Funktionalisierung erhöhte sich der hydrodynamische Radius der Partikel von $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 13.9 \text{ nm}$ auf fast den zehnfachen Wert von $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 127.9 \text{ nm}$. Dieser drastische Anstieg spricht für eine Vernetzung der Partikel über das Polymer, sodass es zu Partikelaggregaten von mehreren Heterodimeren kommt. Diese Aggregate besitzen eine sehr geringe Polydispersität, zu erkennen an der geringen Winkelabhängigkeit von D_{app} , was trotz der schlechten Löslichkeit des Polymers in Chloroform für eine relativ einheitliche Funktionalisierung spricht. Zu der Polymer-funktionalisierten Nanopartikellösung wurde *in situ* eine CaCl_2 Lösung titriert (Endkonzentration in der DLS-Küvette $c_{\text{Ca}^{2+}} = 10 \text{ mM}$), um die Wechselwirkung der Nanopartikel mit Ca^{2+} -Ionen zu untersuchen. Die Komplexierung der Kationen über die Carboxylgruppen der Acrylsäure-Einheiten, die sich quasi wie ein Ionenschwamm verhalten, (232) konnte durch ein Anwachsen auf $\langle 1/R_H \rangle_Z^{-1} = 355.6 \text{ nm}$ gezeigt werden (Abb. 49a-b).

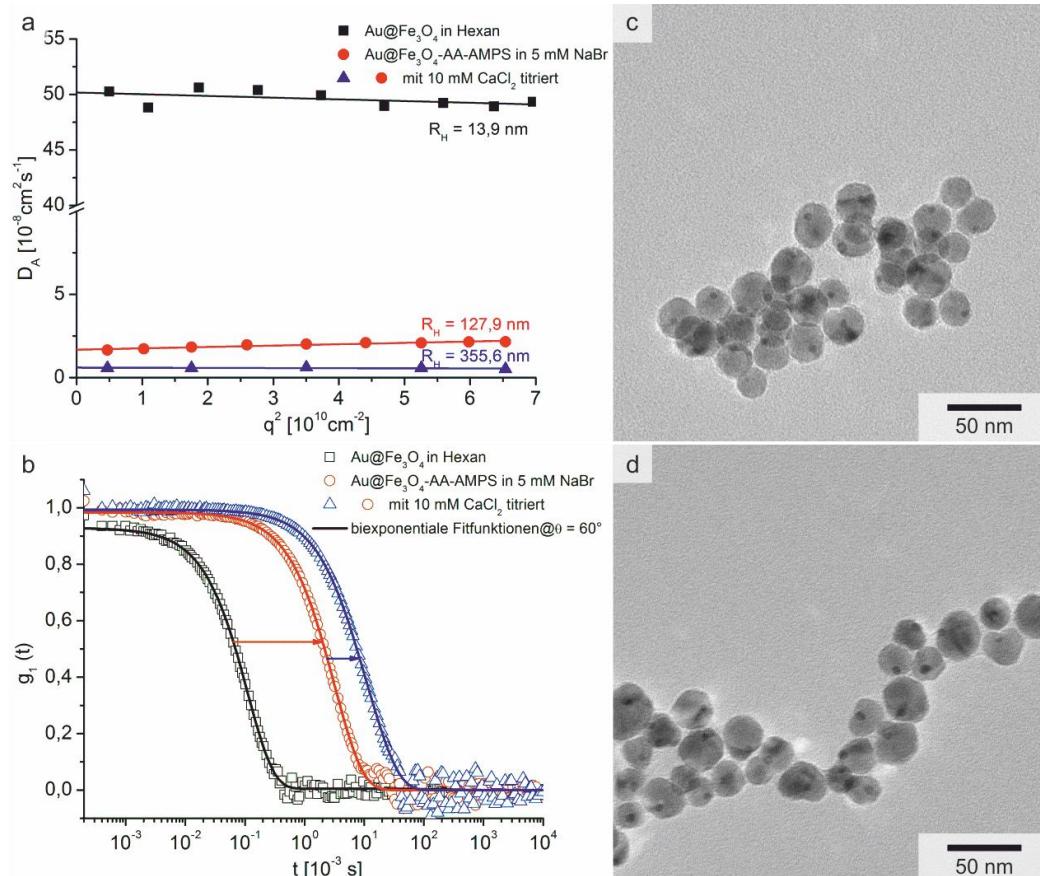


Abb. 49 (a,b) Nachweis der Wechselwirkung AA₂₀-co-AMPS₈₀-funktionalisierter Au@Fe₃O₄-Januspartikel mit in situ Ca²⁺-Ionen-Titration mittels dynamischer Lichtstreuung, (c,d) TEM-Aufnahmen der Partikelaggregate aus der DLS-Küvette zeigen eine Vernetzung über das Polymer

Auch die Partikelaggregate durch Ca²⁺-Komplexierung zeigen monomodales Verhalten der Autokorrelationsfunktion wie auch einen nahezu winkelunabhängigen Diffusionskoeffizienten. Die entsprechenden TEM-Aufnahmen bestätigen die Vernetzung der Partikel über die Polymerketten (Abb. 49c-d). Nach diesen Ergebnissen zu urteilen, müssen noch ungebundene PAA-Einheiten vorliegen, die mit den Ca²⁺-Ionen elektrostatisch wechselwirken, während die AMPS-Gruppen für die kolloidale Stabilität der Nanopartikel verantwortlich sind. (233) Diese so funktionalisierten Partikel besitzen also eine Affinität zu Calciumcarbonat und können so in das Wirtsgitter eingebaut werden, wie im nächsten Kapitel gezeigt wird. Zusammenfassend lassen sich Januspartikel aufgrund der spezifischen Eigenschaften ihrer Komponenten in ihren amphiphilen Eigenschaften verstärken oder gezieht mit Proteinen oder Polymeren funktionalisieren, wodurch ihr Löslichkeitsverhalten und ihre Affinität zu Biomineralen hergestellt werden kann.

Nanopartikel als Kristallisationsmodifizierer

3.1 Molekulare Selbstanordnung in der Kristallisation

Die Idee der Selbstanordnung amphiphiler Januspartikel als nanoskopische Baueinheiten mit intrinsischen Eigenschaften ist von der Natur her inspiriert. Diese Eigenschaften lassen sich sehr gut auf die Synthese von Biokompositmaterialien in Anlehnung an Lipide und Proteine übertragen, die in der Natur für strukturgebende Eigenschaften verantwortlich sind. Molekulare Selbstanordnung von Nanokristalliten in Kolloidkristallen (234) (235) findet sich sowohl in der Natur z.B. in Muscheln in Form von CaCO_3 , (236) in Seeigel-Stacheln, (237) in Fluorapatit, (238) (239) magnetotaktischen Bakterien (240) als auch in Form von synthetischen Analoga aus Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), (241) Übergittern von Metalloxiden und Bimetallen, (242) Magnetfeldgeordneten Überstrukturen von Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), (243) Rutil (TiO_2) (244) und ZnO , (245) mit besonderen mechanischen, (121) optischen (246) (247) und magnetischen (248) Eigenschaften. Kristallographische Selbstanordnung von Nanokristalliten kann so zu dendritischen, (249) diamantartigen, (250) linearen (251) und schichtartigen Überstrukturen (252) führen, letztere erinnern dabei an Oberflächen-Schichtproteine (S-Layer proteins). (253) Wie schon bei den polymeren Januspartikeln von Kumacheva et al. gezeigt werden konnte, (130) ist das Prinzip der Selbstanordnung nicht auf anorganische Materialien beschränkt. So gelten die gleichen Regeln z.B. auch für Kolloid-Kristalle aus monodispersen Poly(methylmethacrylat)-Sphären, (254) (255) deren Oberflächenmodifikation deren Überstruktur bestimmt. Eine der frühen Arbeiten, die sich mit der Phasenseparation von Mineralsolen (Bentonit, Eisenoxid), den auftretenden elektrostatischen Kräften zwischen Koazervaten (Mizellen) und der Kristallisation von Proteinen beschäftigt haben, stammt von Langmuir. (256) Oberflächenmodifizierte Tonminerale wie Kaolinit, deren Janus-Charakter

erst durch unterschiedliche flächenselektive Funktionalisierung mit Polymeren zum tragen kommt, eignen sich industriell als gut verfügbare und preiswerte Detergentien. Die oberflächenspezifische Wechselwirkung einer Reihe von Oberflächenliganden wie Polyelektrolyten, (257) (258) mizellar responsiven Polymeren, (259) Polysacchariden, (260) selbstorganisierten Monolagen (SAMs) (261) und Proteinen (43) (262) ist verantwortlich für die Wachstumskontrolle und die Stabilisierung von Biomineralen. Neben den zahlreichen intrinsischen optischen, magnetischen und morphologischen Eigenschaften von Nanopartikeln können diese auch Nukleationskeime bei der Bildung von Biomineralen dienen. So konnte Küther et al. bereits 1998 zeigen, dass Kristallisationskontrolle durch SAMs nicht auf makroskopische Flächen beschränkt ist, sondern sich auf dreidimensionale sphärische Nanooberflächen in Form von Thiol-funktionalisierten Au-Kolloiden erweitern lässt. (263) Dieses sehr bioinspirierte System der heterogenen Nukleation in Übereinstimmung mit der von Mann et al. hervorgehobenen Bedeutung von Templateffekten an Grenzflächen (264) eignet sich daher hervorragend, Nukleations- und Wachstumsprozesse in Abhängigkeit von einer definierbaren Grenzfläche aus zu untersuchen. Aus diesen Arbeiten heraus erwachsen zudem eine Menge weiterer interessanter Fragestellungen, wie die Autoren betonen, z.B. die Abhängigkeit der Nukleation von der Größe und der Oberflächenfunktionalisierung der Au-Saatkeime. (155) Den Einfluss von Übergangsmetallkationen auf die Aggregation von mit Mercaptocarbonsäuren funktionalisierten Au-Nanopartikel wurde in einer der zahlreichen Arbeiten von Grzybowski et al. untersucht. (265) Hierin konnten die Autoren u.a. zeigen, dass sich die Carboxylatgruppen der 11-MUA-Au-Nanopartikel über Ni^{2+} -Kationen verbrücken lassen. Dabei kommt es in Abhängigkeit des Verhältnisses von Salz (NiSO_4) zu Au-Nanopartikeln und der Wahl des Kations (NiSO_4 und CuSO_4) zu unterschiedlichen Morphologien von NP-Aggregaten. Die unterschiedlich positiv und negativ geladenen Au-Nanopartikel wirken zudem als wachstumsmodifizierende Additive zur Kontrolle von Mikrokristallen analog zu organischen Detergenzien. Die Autoren betonen, dass erst durch die hohe räumliche Nähe und der daraus resultierenden Polyvalenz des SAMs auf den Nanopartikeln eine Koordination an die Mikrokristalle ermöglicht wird, da der entropische Verlust der Immobilisierung der auf den Nanopartikeln vororganisierten Liganden im Vergleich zu freien Liganden umgangen wird. Die Polyvalenz und der minimale Entropieverlust sind also zwei Triebkräfte für die Adsorption auf die Mikrokristalloberflächen. In Abhängigkeit von der Salzkonzentration können zwei Regime von Kompositkristallen abgedeckt werden: Zum einen Kationen induzierte Aggregation von Nanopartikeln, zum

anderen Wachstumskontrolle von Mikrokristallen durch Nanopartikel. In Abhängigkeit von den Reaktionsparametern, wie die Wahl der Kationen, der Konzentrationen, des pH-Wertes usw., treten unterschiedliche molekulare Wechselwirkungen basierend auf elektrostatischen (Coulomb), van der Waals oder chelatisierenden Kräften auf. Die Modifizierung des Kristallwachstums von CaCO_3 - Mikrokristallen durch kooperativ wirkende positiv und negativ geladene Au-Nanopartikel wurde von Kowalczyk et al. untersucht. (266) Durch das Auftreten verschiedener ladungsgesteuerter Wechselwirkungen sowohl zwischen den Nanopartikeln selbst als auch zwischen den Nanopartikeln und dem Salz ergibt sich laut den Autoren ein ideales Konzentrationsregime von $0.25 < \chi < 4.0$ mit $\chi = C_{NP}/C_{\text{Salz}}$, indem effektive Wachstumskontrolle durch Ausbildung von Nanopartikelmonolagen auf den Flächen der Kristalle stattfindet. Die Kristallgröße d hängt dabei antiproportional von χ ab, was sich sowohl im Experiment zeigte als auch von den Autoren hergeleitet werden konnte. Diese Herleitung soll im Folgenden kurz erläutert werden, da sie das Kristallwachstum in Abhängigkeit eines adsorbierten Additivs relativ gut beschreibt. (266) Die Wachstumsrate des sich bildenden Kristalls hängt linear von dessen Oberfläche A und vom Stoffmengenfluss J der Ionen zur Kristalloberfläche nach

$$\frac{dV}{dt} = v \cdot A \cdot J \quad (3.1)$$

$$\frac{da}{dt} = v \cdot J \quad (3.2)$$

mit dem molaren Volumen v und dem Partikelradius a ab. Der molare Ionenfluss J hängt von der Übersättigung und somit von der Differenz der Ionenkonzentration in Lösung C und der Gleichgewichtskonzentration C_{eq}

$$J = k(C - C_{eq}) \quad (3.3)$$

ab, wonach man durch Einsetzen in (3.2) den Ausdruck

$$\frac{da}{dt} = vk(C - C_{eq}) \quad (3.4)$$

erhält. Wird nun das Kristallwachstum von den Nanopartikeln partiell inhibiert, findet weiterer Einbau von Ionen in das Gitter nur an den nicht durch Nanopartikel belegten Plätzen statt, wodurch sich die tatsächliche Konstante der Wachstumsrate um den Bedeckungsgrad der Nanopartikel auf der Kristalloberfläche θ_{NP} gemäß

$$k = k_0(1 - \theta_{NP}) \quad (3.5)$$

reduziert. Unter der vereinfachenden Annahme, dass die Nanopartikel irreversibel anbinden, folgt für die Adsorptionsrate der Nanopartikel

$$\frac{d\theta_{NP}}{dt} = k_{NP}C_{NP}(1 - \theta_{NP}) \quad (3.6)$$

Für die Bildung einer Monolage kann man weiter annehmen, dass die Nanopartikelkonzentration in Lösung C_{NP} konstant bleibt und man erhält durch Lösen von (3.6) eine zeitabhängige Funktion des NP-Bedeckungsgrades

$$\theta_{NP} = 1 - \exp(-k_{NP}C_{NP}t) \quad (3.7)$$

und somit nach (3.5) die Ratekonstante für das Kristallwachstum

$$k = k_0 \exp(-k_{NP}C_{NP}t) \quad (3.8)$$

Durch die Zeitabhängigkeit der Ratekonstanten verlangsamt sich das Kristallwachstum mit zunehmender Partikelbelegung, wodurch man durch Einsetzen von (3.8) in (3.4) und anschließender Integration den zeitabhängigen Partikelradius $a(t)$ mit

$$a(t) = \frac{\nu k_0 (C - C_{eq})}{k_{NP} C_{NP}} [1 - \exp(-k_{NP} C_{NP} t)] \quad (3.9)$$

erhält. Für sehr lange Reaktionszeiten $t \gg (k_{NP} C_{NP})^{-1}$ erhält man einen konstanten Partikelradius von

$$a(\infty) = \frac{\nu k_0 (C - C_{eq})}{k_{NP} C_{NP}} \propto \frac{1}{\chi} \quad (3.10)$$

Somit skaliert die Kristallgröße $d \sim 1/\chi$, mit anderen Worten, mit zunehmender Nanopartikelkonzentration wird das Wachstum stärker inhibiert, was sich auch experimentell von den Autoren bestätigen ließ. Neben der Größenabhängigkeit der Mikrokristalle von der Additivkonzentration spielten auch andere Parameter wie der pH-Wert eine Rolle für die Inhibierung. Dies betraf im Wesentlichen den 11-MUA-Liganden. Eine Reihe bivalenter Kationen wie u.a. Zn^{2+} , (267) Cu^{2+} (268) und auch monovalente Ionen koordinieren unterschiedlich stark an Carboxylatgruppen. (269) So sind z.B. Ca^{2+} -Ionen in der Lage, zwei Carboxylatgruppen zu komplexieren, was anhand von Molekuldynamik- und

Lichtstreustudien an Natrium-Polyacrylaten gezeigt werden konnte. (232) (270) Durch die negativen Ladungen am Polymerrückgrat nehmen die Polymerketten eine gestreckte Konformation ein, während es durch die dissoziierte Na-Ionenwolke über längere Distanzen zu intermolekularen Anziehungen kommt. (232) Die negative Ladung wird somit nach außen durch die Natriumionen abgeschirmt, wobei das Oberflächenpotential der elektrischen Doppelschicht innerhalb der Debye-Länge κ^{-1} auf das $1/e$ Fache abfällt. (271) Bivalente Kationen führen zu einer stärkeren Anbindung an die Carboxylatgruppen, sodass diese ein Verknäulen der Polymerketten bewirken. (270) Allerdings zeigte eine Studie von Wang et al. 2011 zum Aggregationsverhalten Carboxylat-funktionalisierter Au-Nanopartikel, dass auch monovalente Kationen unterschiedlich stark mit Carboxylaten wechselwirken. Das Aggregationsverhalten der Au-Kolloide, die eine Monolage aus deprotonierten 11-MUA-Liganden besaßen, wurde unter Zugabe verschiedener monovalenter Kationen mittels DLS und UV-Vis-Spektroskopie untersucht. Die Autoren konnten so eine Reihe einer kritischen Salzkonzentration (CSC) mit der Reihenfolge $\text{CsCl} \gg \text{KCl} > \text{LiCl} > \text{NaCl} > \text{RbCl}$ angeben, die für die Aggregation der Partikel benötigt wurde. (272) Durch das Abschirmen der zuvor abstoßenden negativen Ladung auf den Partikeloberflächen kommt es zur Zusammenlagerung. Neben den für gleichartig geladene Kolloide wichtigen Kräften der elektrostatischen Abstoßungs-, den attraktiven van der Waals- und den Solvatationskräften entsprechend der Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO)-Theorie, (273) (274) (275) diskutieren die Autoren auch verbrückende Anziehungskräfte der Ionen zu den Carboxylaten. (272) (276) (277) Die attraktiven van der Waals (VdW) und die repulsiven elektrostatischen Kräfte addieren sich bzgl. der DLVO-Theorie (**Abb. 50**). Zu den attraktiven Kräfte aufgrund eines entropisch verursachten reduzierten osmotischen Drucks zwischen den Kolloiden (sog. „depletion forces“) sei auf die Literatur verwiesen. (278) Das elektrostatische Potential zwischen zwei geladenen Nanopartikeln lässt sich näherungsweise durch die folgende Beziehung ausdrücken (266)

$$\phi_{ES} = 4\pi\varepsilon_0\varepsilon\varphi_1\varphi_2R^2 \frac{\exp[-\kappa(r - 2R)]}{r} \quad (3.11)$$

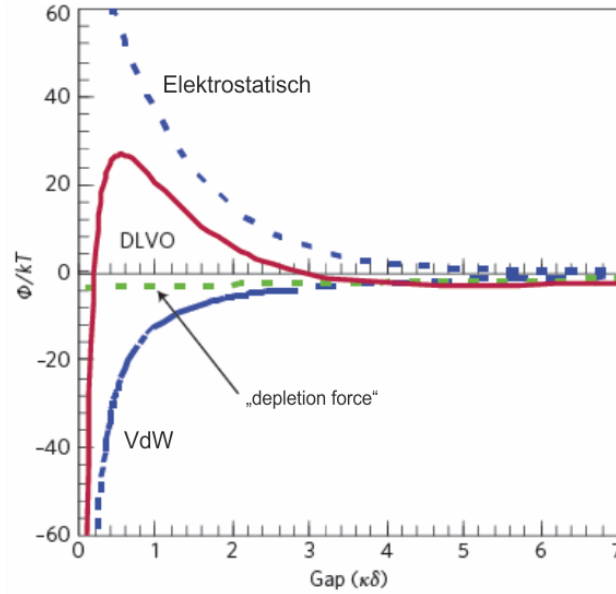


Abb. 50 Die DLVO-Theorie beschreibt die Summe der attraktiven VdW-Kräfte, Kräfte durch reduzierten osmotischen Druck zwischen zwei Kolloiden (depletion-force, ebenfalls attraktiv) und repulsiven elektrostatischen Kräften; übernommen mit Modifizierungen nach (273)

mit der dielektrischen Konstanten des Lösungsmittels ϵ , dem Nanopartikelradius R , den Oberflächenpotentialen φ und der Debye-Abschirm-Länge κ^{-1} , für die gilt

$$\kappa^2 \equiv \frac{e^2}{\epsilon_0 \epsilon k_B T} \sum_i z_i^2 C_i \quad (3.12)$$

mit der Ladungszahl z_i und Konzentration C_i des jeweiligen Ions. Das Oberflächenpotential geladener Nanopartikel hängt davon ab, inwieweit die Liganden dissoziiert sind. Am Beispiel der $Ca^{2+}/-CO_2^-$ -Wechselwirkung hängt das Dissoziationsgleichgewicht einer Anzahl N_A -negativ geladener 11-MUA-Liganden an einem Nanopartikel zu denen mit gebundenen Ca^{2+} -Gegenionen (B^+), N_{AB} , mit der Konzentration der Gegenionen in Lösung C_{B^+} von der Bindungsenergie $\Delta\mu_i$ wie folgt ab

$$\frac{N_{A^-} \cdot C_{B^+}}{N_{AB}} = \exp\left(\frac{\Delta\mu_i - e\varphi_s}{k_B T}\right) \quad (3.13)$$

wobei φ_s das elektrostatische Potential auf der Partikeloberfläche ist. Während des Kristallisationsexperimentes nimmt der Konzentration der Ca^{2+} -Ionen ab, sodass zur Erhaltung des Gleichgewichts auch mehr Liganden dissoziieren, wodurch das Oberflächenpotential der Nanopartikel stetig zunimmt. Abgesehen davon steigt bei der klassischen Ammoniumcarbonat-Diffusionsmethode der pH-Wert stetig an. (90) Die hohe Affinität der bei pH ~ 11 vollständig deprotonierten 11-MUA-Liganden ($pK_a \sim 6-8$) (272) (279) (280) zu Calcium-Ionen befähigt

die so funktionalisierten Au-Kolloide zur Wechselwirkung mit Calciumcarbonat. Kowalczyk et al. variierten wie oben schon erwähnt auch den pH-Wert und konnten eine Zunahme der Schichtdicke des Au-Kolloidfilms auf den CaCO₃-Mikrokristallen aufgrund von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen partiell protonierten 11-MUA-Liganden bei Werten um pH ~ 8.5 feststellen. (281) Für die Kristallisation mit den orthogonal funktionalisierten Januspartikeln, 11-MUA auf der Au-Seite, PEG an der Metalloxiddomäne, ist eine vorherige Deprotonierung der Carboxylgruppen nicht notwendig, da die Löslichkeit über die größere hydrophile MO_x@SiO₂-Domäne erreicht wird. Somit treten zu Beginn des Experiments (pH ~ 5-6) hauptsächlich H-Brückenbindungen zwischen den Partikeln durch die SAMs auf den Au-Domänen auf (s. 11-MUA-Au@ZnO@SiO₂) und van der Waals (VdW)-Kräfte. Letztere wirken auch zwischen den SAMs auf den Nanopartikeln und den CaCO₃-Kristallen, das Potential kann wie folgt kalkuliert werden (266):

$$\phi_{i,surf}^{vdW} = \frac{A_{surf}}{6} \left[\frac{R}{(z_i - R)} + \frac{R}{(z_i + R)} + \ln \left(\frac{z_i - R}{z_i + R} \right) \right] \quad (3.14)$$

R ist Radius des Nanopartikels mit SAM-Hülle und z_i der Abstand des Partikelmittelpunkts von der Kristalloberfläche. Die Hamaker-Konstante A kann über die Lifshitz-Theorie in Kombination mit angenäherten dielektrischen Permittivitäten kalkuliert werden. (266) (282) Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang die Analogie zwischen den von Kowalczyk verwendeten (+/-)-Au-Nanopartikel, welche zum einen in Abhängigkeit von der eingesetzten Menge einen inhibitorischen Effekt auf die Mikrokristalle besitzen, aber gleichzeitig nicht die Morphologie der Kristallite beeinflussen und den hier verwendeten Januspartikeln. Beide Partikelsorten wirken dabei nicht flächenspezifisch, sodass sie universell einzusetzen sind. Das Verhalten dieser Partikel erinnert dabei stark an das grenzflächenaktiver Substanzen wie den AA-co-AMPS-Polymeren. (205) Die hier verwendeten 11-MUA-Au@ZnO@SiO₂ Nanostäbchen besitzen auch strukturell eine hohe Ähnlichkeit zu den Polymeren. Als löslichkeitsvermittelnde Komponente dient die ZnO@SiO₂-Domäne und als „Ankermolekül“ der 11-MUA-SAM auf der Au-Domäne. Die modifizierenden Eigenschaften auf das Kristallwachstum von CaCO₃ werden im nächsten Kapitel beschrieben. Für die ebenfalls getesteten 11-MUA-Au-Kolloide wurden allerdings Polykristalle erhalten. Auch hier kann man analog zu Kowalczyk eine inhibitorische Wechselwirkung annehmen, jedoch ist auch eine Nukleations-induzierende Wirkung denkbar.

3.2 Experimentalteil

3.2.1 Synthese der 4 nm 11-MUA-Au Kolloide

Als Kristallisationsadditive wurden die in Kapitel 2 nach der Vorschrift von Peng et al. synthetisierten 4 nm Au-Kolloide verwendet. Zur Invertierung der Löslichkeit mussten die Oleylamin (OAm)-Liganden zuvor durch 11-Mercaptoundecansäure (11-MUA)-Liganden ausgetauscht werden. Dazu wurden zu einer Lösung von 20 mg (0.1 mmol) 11-MUA in 20 mL Chloroform (1 mg/mL) 10 mg der 4 nm Au-Kolloide in 10 mL Chloroform gegeben und für 2 h gerührt. Die funktionalisierten Nanopartikel wurden durch Zentrifugation (10 min bei 9000 rpm, RT) gesammelt, einmal mit Chloroform und zweimal mit Ethanol gewaschen, um überschüssige organische Liganden zu entfernen. Nach Überführen in Millipore-Wasser unter Zugabe von wenigen Tropfen konz. Natronlauge zeigten die Partikel kolloidale Stabilität in Wasser.

3.2.2 Synthese der 11-MUA-Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen

Entsprechend Kapitel 2 wurden zunächst die Au@ZnO-Nanostäbchen mit einer Silica-Hülle versehen. Dazu wurden zu einer Tensidlösung aus 200 mg Igepal CO-520 in 4 mL Cyclohexan unter Ar-Schutzgasatmosphäre ca. 1.6 mg der Au@ZnO-Nanostäbchen in 70 µL n-Hexan gegeben und für 20 min bei RT gerührt. Die reversen Mizellen wurden durch Zugabe von 18 µL einer verdünnten NH₄OH-Lösung (pH = 10.8) induziert. Nach 4 min Rühren wurden 14 µL TEOS dazugegeben und die Lösung über Nacht gerührt. Zur Verbesserung der Löslichkeit in Wasser wurde die Silica-Hülle durch Zugabe von 18 µL PEG-TES funktionalisiert und die Reaktion für weitere 2 h gerührt. Danach wurden größere Aggregate durch Zentrifugation (4.5 min, 4000 rpm, RT) abgetrennt, und die übrigen Partikel im Überstand nochmals durch Zentrifugation (4.5 min, 13000 rpm, RT) gesammelt. Nach vollständigem Entfernen der Cyclohexan-Phase wurden die Partikel in gefiltertem Ethanol (Millex LCR 0.45 µm) resuspendiert, zentrifugiert (4.5 min, 13000 rpm, RT) und wiederum in gefiltertem Ethanol gelöst. Die Partikel zeigten eine sehr gute Löslichkeit und wurden ohne weitere Aufreinigung in die DLS-Küvette überführt (c ~ 0.1-0.2 g/L).

Die 11-MUA-Funktionalisierung wurde *in situ* in der DLS-Küvette (Hellma, Suprasil, d = 2 cm) durchgeführt. Dazu wurden 6 mg (0.03 mmol) 11-Mercaptoundecanonsäure in 3 mL Ethanol unter Ar-Schutzgasatmosphäre gelöst und zur Reduktion von evtl. ausgebildeten S-S-Bindungen der Thiolgruppen 60 µL einer 0.5 M Tris(2-carboxyethyl)phosphin Hydrochlorid

(TCEP)-Lösung (10 mM) dazugegeben. 1 mL dieser Lösung wurde zur Nanopartikellösung durch einen Millex LCR 0.45 μm Filter in die Küvette gegeben und die Anbindung durch eine erneute Messung im Bereich von $30^\circ \leq \theta \leq 150^\circ$ überprüft. Für $\theta = 30^\circ$ verdoppelte sich $\langle R_{H,app} \rangle$ nahezu von $\langle R_{H,app} \rangle = 110 \text{ nm}$ auf $\langle R_{H,app} \rangle = 197 \text{ nm}$, was für eine 11-MUA induzierte Dimerisierung der Nanopartikelaggregate spricht. Die so funktionalisierten Nanopartikel wurden in Millipore-Wasser überführt und zusammen mit einer 5 mM CaCl_2 -Lösung zur Kristallisation mittels der Ammoniumcarbonat-Diffusionsmethode (ADM) gebracht.

Anmerkung: Zur Funktionalisierung der $\text{Au}@Fe_x\text{O}_y@\text{SiO}_2$ Nanopartikel siehe Kapitel 2.

3.2.3 Nanopartikel-kontrollierte Kristallisation von CaCO_3

Die Kristallisationen mittels der Ammoniumcarbonat-Diffusionsmethode (ADM) wurden in einem Exsiccator mit 7 g feingemörsertem Ammoniumcarbonat in einer mit Parafilm verschlossenen Petrischale durchgeführt. Der Parafilm wurde mit 5 Löchern versehen. Die CaCO_3 -Kristalle wurden heterogen auf reinen Quarzglasträgern (Spectrosil, 5 x 7 mm) abgeschieden, welche zuvor mit saurer Piranha-Lösung (konz. H_2SO_4 , 30%-ige H_2O_2 , 2:1) gekocht, mehrfach mit Millipore-Wasser gewaschen und schließlich mit Ethanol behandelt und trocken geblasen wurden. Die Quartzze wurden senkrecht in Eppendorf-Röhrchen positioniert, deren Deckel mit zwei kleinen Löchern versehen wurden. Soweit nicht anders angegeben, betragen die Standardkonzentrationen der Nanopartikel $\sim 0.2 \text{ g/L}$ in einer 5 mM CaCl_2 -Lösung. Die Kristallisationsdauer betrug 14 h. Danach wurden die Quartzze entnommen, vorsichtig mit Millipore-Wasser abgespült und über einem Kimwipe-Tuch zur weiteren Untersuchung getrocknet.

3.3 Ergebnisse und Diskussion

3.3.1 $\text{Au}@Zn\text{O}@Si\text{O}_2$ -Nanostäbchen als Wachstumsmodifizierer

Die sehr ähnlichen chemischen Eigenschaften zwischen den $\text{Au}@Zn\text{O}@Si\text{O}_2$ -Nanostäbchen und doppelhydrophilen Copolymeren spiegeln sich in ihrer Wirkung als Wachstumsinhibitoren wider. Während die CaCO_3 -Referenzkristalle eine durchschnittliche Kantenlänge von 15 μm besitzen, reduziert sich die Kristallgröße durch die Addition der

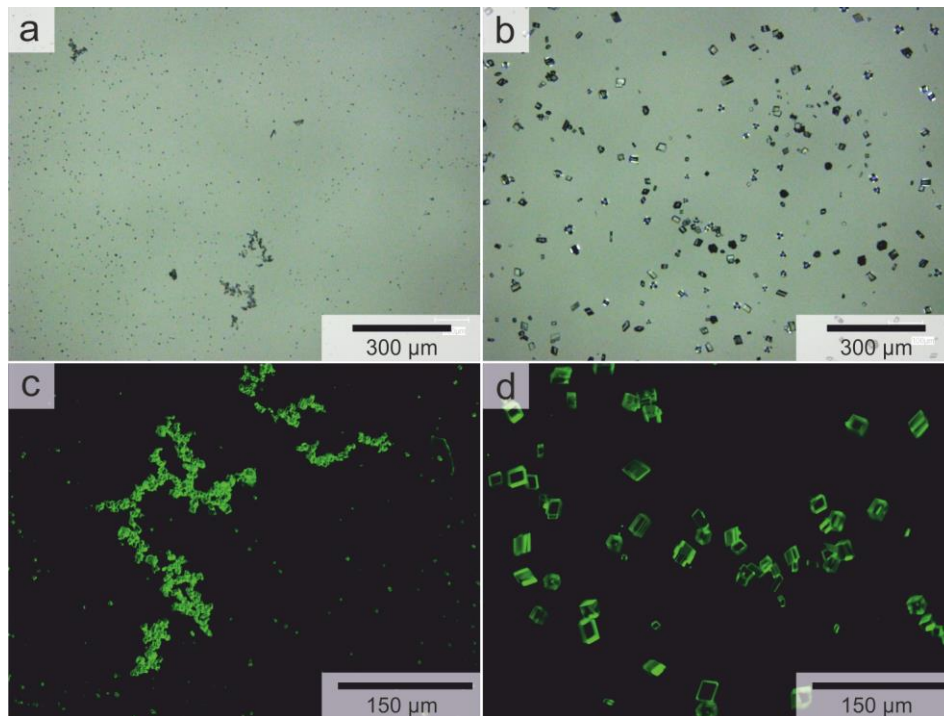


Abb. 51 (a-b) Lichtmikroskopische Aufnahmen der CaCO₃-Kristallisation zeigen den inhibitorischen Effekt der 11-MUA-JP (a) im Vgl. zur Referenz (b), (c-d) Fluoreszenzmikroskop-Aufnahmen aggregierter und kleinerer Calcit-Kristalle mit oberflächlichen fluoreszierenden Nanopartikeln (c) und stark lichtbrechender Referenzkristalle (d), Anregungswellenlänge $\lambda = 490$ nm.

Nanopartikel auf ca. 5 μm (Abb.51). Wie die lichtmikroskopischen Aufnahmen zeigen, besitzt die Mehrzahl der inhibierten Mikrokristalle bis auf wenige Ausnahmen eine einheitliche und im Gegensatz zur Referenz deutlich reduzierte Kristallitgröße. Auch auf den fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen kann man diese einheitlich kleinen Kristallite im Hintergrund erkennen. Diese liegen genauso wie die Referenzkristalle separiert vor. Auf der lichtmikroskopischen Aufnahme (Abb.51a) kann man wenige Aggregate mit meanderförmiger Morphologie erkennen. Diese sind in der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahme (Abb.51c) vergrößert dargestellt. Die als Additive eingesetzten Nanopartikel wurden in der Silica-Hülle mit einem grünen Fluoreszenzfarbstoff (FITC) funktionalisiert und die entstandenen Kristallisationsprodukte mit einer Wellenlänge von $\lambda = 490$ nm angeregt. Die inhibierten Kristalle zeigten dabei eine deutliche Fluoreszenz, während die Referenzkristalle nur an den $\{104\}$ -Flächen das Licht reflektierten. Daher ist es mit dieser Methode bei stark lichtbrechenden Kristallen schwierig, die Nanopartikel auf der Oberfläche eindeutig nachzuweisen. Die SEM-Aufnahmen der kleineren Rhomboeder (Abb.52) zeigen eine

nanostrukturierte {104}-Flächenschar und besitzen ein ähnliches Aussehen wie die von Kowalczyk durch die (+/-)-Au-Kolloide erhaltenen Calcit-Rhomboeder. Die strukturelle

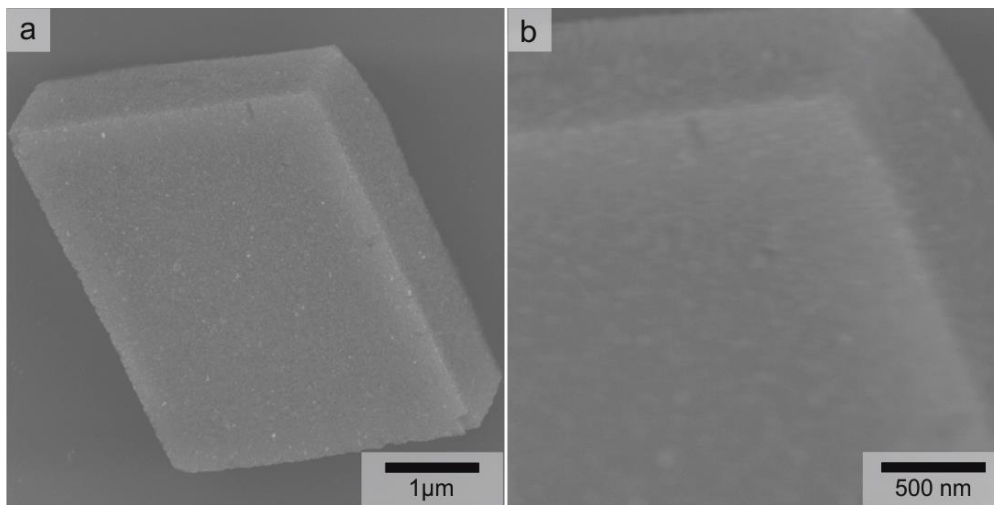


Abb. 52 (a-b) SEM-Aufnahmen eines CaCO_3 -Rhomboeders mit adsorbierten Nanopartikeln auf der {104}-Flächenschar

Ähnlichkeit der Oberfläche zusammen mit der Erhaltung der rhomboedrischen Gestalt der Calcite deutet ebenso wie bei Kowalczyk auf eine nicht-spezifische Adsorption der funktionalisierten Nanopartikel auf den Calcit-Grenzflächen hin, wodurch die Kristallitgröße effektiv kontrolliert werden kann. Kowalczyk nennt als einen der Gründe für die nicht-flächenspezifische Adsorption der von ihm verwendeten (+)/(-)-Nanopartikel die gegenseitige elektrostatische Anziehung. Da die Janus-Partikel trotz des hier ausschließlich verwendeten 11-MUA-Liganden das Kristallwachstum ähnlich inhibieren, scheinen die Carboxylgruppen der polyvalenten Nanopartikel eine ausreichend hohe Bindungsaffinität trotz der neutralen Oberfläche zu gewährleisten. In diesem relativ komplizierten System konkurrierender Wechselwirkungen zwischen den Nanopartikeln in Lösung gemäß der DLVO-Theorie, der Wachstumskinetik der Kristalle und der Adsorption der Nanopartikel auf den Kristallflächen spielt die Konzentration der Additive eine wichtige Rolle. Man kann spekulieren, dass die hier verwendete sehr niedrige Konzentration ($\sim 0.1 \text{ g/L}$) die Adsorption auf den Kristallflächen gegenüber der Aggregation der Partikel in Lösung begünstigt. (283) Weiterhin wurden AFM-Messungen im dynamischen Intermittent-Contact-Mode (Amplituden-Modulationsmodus, AM-Modus) auf den größeren Kristallen durchgeführt, da die kleineren nur schwer zu lokalisieren waren (Abb.54). Im AM-Modus wird der Cantilever (Probenspitze) durch einen Piezokristall nahe seiner Resonanzfrequenz angeregt. Durch die Wechselwirkung zwischen Spitze und Substrat kommt es neben einer Phasenverschiebung zwischen Anregungs- und Cantileverschwingung auch zu einer Amplitudendämpfung. Durch ständige Anpassung der z-

Position an die Amplitudenänderung wird diese Information als Rekonstruktionsgrundlage für die Oberflächenbeschaffenheit der Probe verwendet. Im Gegensatz zum Contact-Mode treten hier keine lateralen Kräfte auf, sodass die Oberfläche relativ schonend untersucht werden kann, ohne die Probe durch die Messung zu beeinflussen. Dieses Messverfahren war für die hier untersuchte Probe am besten geeignet, da die adsorbierten Nanopartikel so auf ihren tatsächlichen Positionen detektiert werden konnten, ohne sie durch laterale Kräfte auf der Substratoberfläche zu verschieben. Die AFM-Messungen wurden auf einem der größeren Calcite auf der nach oben gerichteten pyramidenförmigen Fläche durchgeführt, wie sie auf der SEM-Aufnahme in Abb.53c zu erkennen ist.

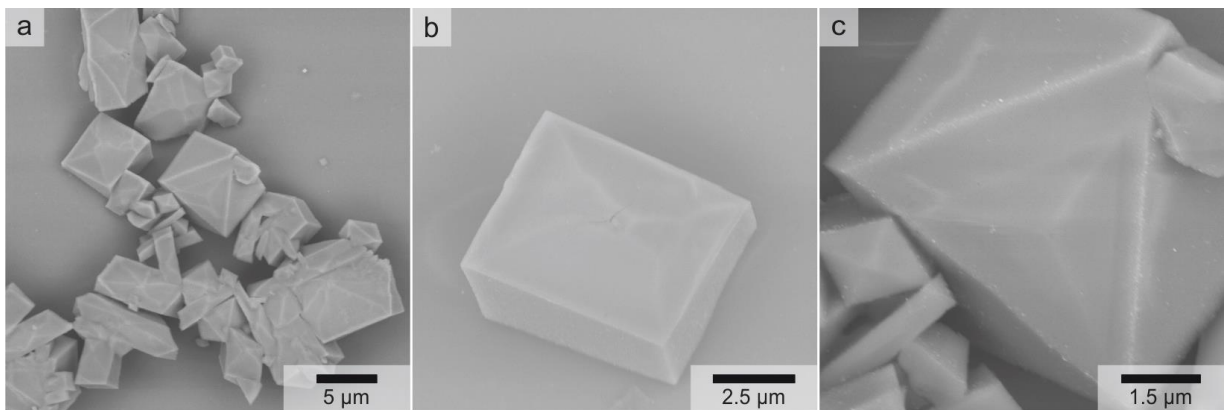


Abb. 53 SEM-Aufnahmen der wenigen größeren Calcit-Kristalle mit nach oben zeigender potentieller (1-10) Fläche, wie man in (b) erkennen kann, werden die übrigen Flächen durch $\{104\}$ begrenzt

Das Höhen (Z)- und das Phasen (P)-bild (Abb.54a-b) zeigen ebenfalls eine nano-strukturierte Oberfläche. Von dem Höhenbild wurden mit einer Analysesoftware (Gwyddion 2.25) jeweils zwei Höhenprofile entlang und senkrecht zur Ausrichtung der anisotropen Nanostrukturen auf der Oberfläche aufgetragen (Abb.54c-d). Die Form des Höhenprofils zeigt relativ gleichförmige Erhebungen von den Dimensionen der als Additive verwendeten 11-MUA-Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen. Laut dem Höhenbild besitzen diese eine Länge von jeweils 100 nm, eine Breite von 20-30 nm und eine Höhe von 6-12 nm, was in der Größenordnung der Nanopartikelaggregate liegt. Wie man im Phasenbild im oberen Bildabschnitt erkennen kann, ist die Oberfläche allerdings nicht vollständig mit Nanopartikeln belegt. Im unteren Bildabschnitt von Abb.54 (b) sind Nanopartikeladsorbate entlang potentieller Wachstumskanten angeordnet. Wie man auf den SEM-Aufnahmen (Abb.53a-b) erkennen kann, besitzen die Calcite jeweils eine nach oben gerichtete pyramidenförmige Spitze, während die übrigen Flächen durch die $\{104\}$ -Schar begrenzt sind, welche aber ebenfalls eine raue Oberfläche besitzen. Hierbei kann es sich also nicht um einen Substrateffekt des Glasträgers

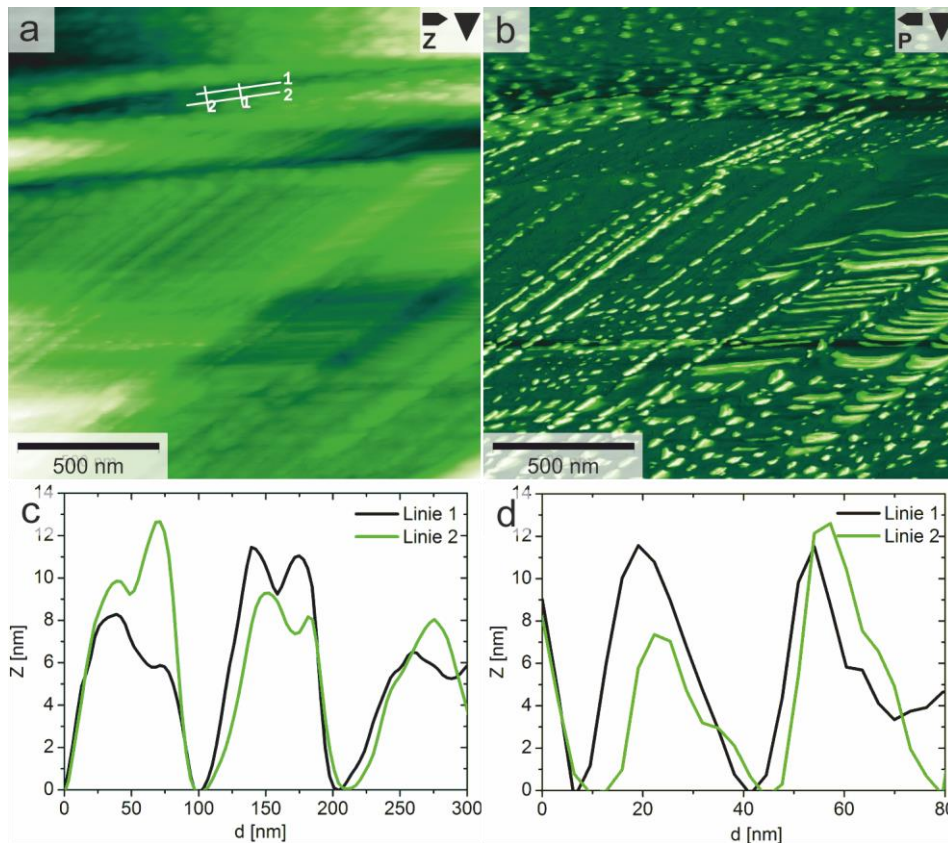


Abb. 54 AFM-Höhen- (a) und Phasen- (b) Abbildung der Calcit-Oberfläche im AM-Modus, die in (c) und (d) dargestellten jeweils parallelen Höhenprofile verlaufen entlang der in (a) eingetragenen Geraden, die Nanopartikel sind demnach 100 nm lang und 20-30 nm breit

handeln. Sowohl auf der SEM- als auch auf der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahme erkennt man, dass die größeren Kristalle sich teilweise durchdringen und willkürlich aggregieren. Die gleichförmige Ausrichtung der pyramidalen Spitzen der aggregierten Kristalle deutet dennoch auf einen „Substrateffekt“ hin, der allerdings nicht von dem Glaträger stammen kann. Die Morphologie dieser Kristalle erinnert sehr stark an die Ergebnisse von Heywood und Mann. (284) Die Autoren verwendeten dabei ein Kristallisationsexperiment, bei dem Calcite unter dem Einfluss einer in einem LB-Trog komprimierten Monolage von Amphiphilen wie der Stearin- und Eikosanonsäure synthetisiert wurden. Bereits eine Arbeit von S. Mann et al. (1991) deutete die Resultate so, dass durch diese Monolagen als organisierte Oberflächen aufgrund der molekularen Wiedererkennung mit den Carboxylgruppen der Schicht orientierte Nukleation induziert werden kann. (285) Die SEM-Aufnahmen in Abb.55 (a) und (c) zeigen die Aufsicht auf die von Mann an der Carboxylat-Monolage nukleierten Calcite mit der $\{1\bar{1}0\}$ -Flächenschar mit zentraler Erhebung und seitlich begrenzenden $\{104\}$ -Flächen. Letztere bilden einen Winkel von 45° zur Oberseite und somit zur Monolage/Lösungs-grenzfläche. Anhand der Lage von rhomboedrischen Elementen entlang der schrägen Kanten (Abb.55c) konnte eine

Parallelität zwischen der von der a- und der c-Achse der Rhomboeder aufgespannten Fläche (und somit der $\{1\bar{1}0\}$) und der Monolage festgestellt werden, wie schematisch in Abb.55 (d) gezeigt. Grund für diese induzierte Nukleation ist die molekulare Wechselwirkung zwischen den Carbonat-Gitterplätzen und den Carboxylatgruppen der Monolage. Die orientierte

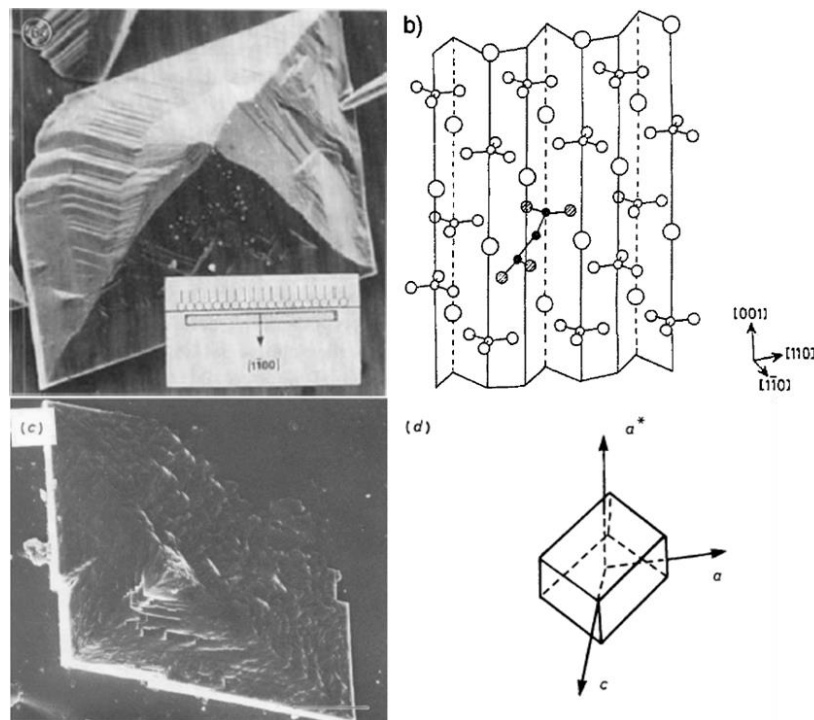


Abb. 55 (a) SEM-Aufnahme eines unter einer Eikosanonsäure-Monolage von der $\{1\bar{1}0\}$ -Fläche aus gewachsenen Calcits (b) molekularer Einbau von Carboxylaten in die $(1\bar{1}0)$ -Fläche von Calcit, in diesem Beispiel Malonsäure, übernommen aus (284) (c) in $\{1\bar{1}0\}$ -ausgerichteter Calcit-Kristall parallel mit $\{104\}$ -Flächen im 45° -Winkel zur Monolage/Lösungs-Grenzfläche, (d) Zeichnung der Rhomboederlage mit der a- und der c-Achse parallel zur Oberfläche der Monolage, übernommen aus (285)

Nukleation und das Wachstum der Kristalle hängen von verschiedenen Faktoren wie der Ladungsanhäufung, geometrischen und stereochemischen Anordnungen der funktionellen Gruppen des Templates ab. (284) Verantwortlich für diesen induktiven Effekt ist zum einen die Substitution der mit der C_{2v} -Achse senkrecht zur $(1\bar{1}0)$ -Fläche liegenden Carbonatgruppe durch die Carboxylatgruppe mit gleicher Symmetrie, als auch der übereinstimmende Gitterabstand zwischen den Ca^{2+} -Lagen und den hexagonal angeordneten Amphiphilen. Die aggregierten Calcite, die unter dem Einfluss der Nanopartikel entstanden sind (Abb.53), weisen eine hohe morphologische Ähnlichkeit zu denen der Monolage auf. In Analogie dazu verlaufen die Kanten auf der mutmaßlichen $\{1\bar{1}0\}$ entlang der auf die $\{104\}$ projizierten kurzen und langen Diagonalen und bilden in der Mitte der Oberfläche eine Erhebung. Bei einer dieser Diagonalen handelt es sich wahrscheinlich um die $[\bar{1}20]$ -Richtung. Die Calcite werden seitlich durch nanostrukturierte $\{104\}$ -Flächen begrenzt, wie sie auch bei den meisten der kleineren

Calcite mit rhomboedrischer Form zu erkennen sind. Leider kann an dieser Stelle keine Aussage über den Entstehungsprozess gemacht werden, da die symmetrieäquivalenten Unterseiten nicht untersucht werden konnten. Aufgrund der Größe, Verwachsung und Anordnung der Kristallite kann man jedoch mutmaßen, dass diese Kristalle an der Oberfläche der Kristallisationslösung entstanden sind, und sich dann auf dem senkrecht dazu stehenden Glassubstrat absetzten. Das Auftreten zweier unterschiedlicher Morphologien und Größen der Calcite spricht jedenfalls für eine unterschiedliche Entstehungsgeschichte. Die Nanopartikel in Lösung stabilisieren die kleineren rhomboedrischen Calcite als auch die Seitenflächen der größeren Aggregate. Wahrscheinlich sind die $\{1\bar{1}0\}$ -Flächen an der Oberfläche durch einen Film aggregierter Nanopartikel stabilisiert worden wie auch bei Mann durch die Monolage. Auch die auf der $\{1\bar{1}0\}$ -Flächenschar durchgeführten AFM-Aufnahmen bestätigen eine Orientierung der Nanopartikel auf den entsprechenden Wachstumsstufen. Danach scheint hier ein zu Mann et al. ähnlicher Mechanismus zur Bildung der ungewöhnlich geformten Oberseiten vorzuliegen. Die in Kapitel 2 gemessenen Kompressionsisothermen der amphiphilen Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen stützen die Analogie zwischen den beiden Systemen. Die $\{1\bar{1}0\}$ -Flächen der größeren Mikrokristallaggregate wurden ebenfalls mit μ -Raman-Spektroskopie untersucht. Die untersuchten Kristalle zeigen die für Calcit typischen Raman-Banden bei 150 und 278 (Gitterlibrationen, E_g), 712 (ν_4 , E_g) und 1086 cm⁻¹ (ν_1 , A_{1g}). (233) Daneben finden sich noch schwache Banden im Bereich von 440 bis 549 cm⁻¹. Das Ramanspektrum wurde mit einem He/Ne-Laser bei 632.8 nm und somit für ZnO im nicht-resonanten Bereich aufgenommen. Im Spektrum konnte die hohe E_2 -Mode bei 439 cm⁻¹ nachgewiesen werden. (286) Bei dem breiten Maximum bei 549 cm⁻¹ könnte es sich um die hohe B_1 -Mode von ZnO handeln (Abb.56). (287) (288) Eine weitere wichtige Bande liegt im Spektrum bei 1336 cm⁻¹(Abb. 56). In Analogie zu SERS-Spektren von 4-Mercaptobenzoat-SAMs auf Goldsubstraten mit immobilisierten Au-Nanopartikeln als Ramansignal-Verstärker (289) kann diese Bande der Carboxylat-Streckschwingung ν_s (COO⁻) der 11-MUA-Moleküle zugeordnet werden. (290) Die extreme Verstärkung dieser sonst so schwachen Signale rührt ausschließlich von eng benachbarten Au-Domänen her, die über die 11-MUA-Moleküle an die Calciumcarbonat-Oberfläche gebunden sind. Bemerkenswert ist die relativ hohe Intensität in Bezug auf den Calcitkristall. In Kombination mit den ZnO-Signalen kann somit davon ausgegangen werden, dass die funktionalisierten Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen auf der $\{1\bar{1}0\}$ -Oberfläche der Calcite

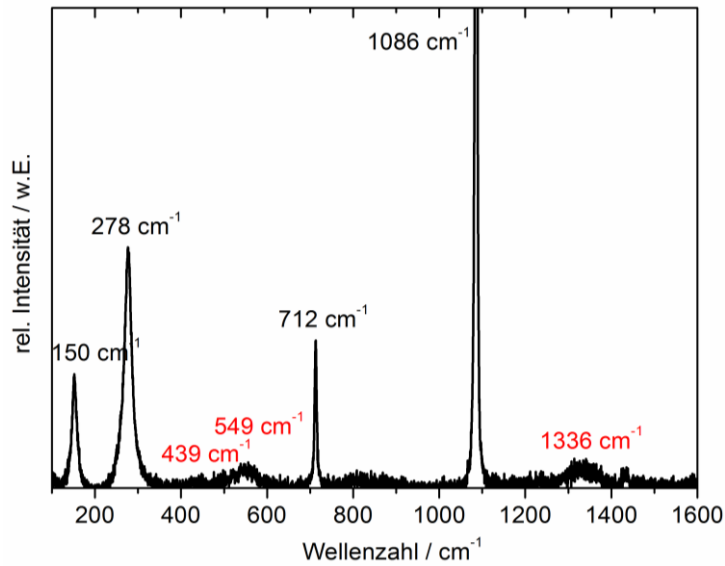


Abb. 56 μ -Raman-Spektrum der in Abb.53 gezeigten Calcit-Kompositkristalle, die in rot angegebenen Banden entsprechen den funktionalisierten Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen

adsorbiert sind. Wie bei Mann et al. beschrieben setzt die Nukleation und das Wachstum solcher $\{1\bar{1}0\}$ -stabilisierter Kristalle eine gewisse Strukturierung des Templates voraus. Den AFM-Ergebnissen zufolge sind wohl die Nanopartikelaggregate hierzu in der Lage. Mögliche Ursachen könnten hier zum einen die anisotrope Funktionalisierung sein. Die stäbchenförmige ZnO/SiO₂-Domäne stellt den löslichkeitsvermittelnden Teil dar, während die Carboxylgruppen der 11-MUA-Liganden den mit Ca²⁺-Ionen komplexierenden Part bilden. Aufgrund der hydrophilen Silica-Domäne war es nicht notwendig, die 11-MUA-Liganden vorher zu deprotonieren, sodass sie anfangs über Wasserstoffbrücken untereinander wechselwirken. Auf der anderen Seite sollte allerdings schon im protonierten Zustand Ca²⁺-vermittelte Aggregation stattfinden. Zudem steigt der pH-Wert relativ rasch in einen Bereich, der für eine Deprotonierung ausreichen sollte. Aufgrund der Diffusionsfront von Ammoniak durch die Lösung werden die Nanopartikel an der Oberfläche zuerst deprotoniert und bilden größere Cluster mit den Ca²⁺-Ionen. Durch die so verbrückten Nanopartikelaggregate und zusätzlichen attraktiven VdW-Kräften kann es hier zu einer Situation kommen, welche an ein Oberflächentemplat erinnert. Wie man anhand der SEM-Aufnahme an einigen der Calcite erkennen kann (Abb.53), werden die $\{1\bar{1}0\}$ -Flächen teilweise bis zu 10 μm im Durchmesser stabilisiert, während die umgebenden $\{104\}$ -Flächen beträchtlich kleiner sind. Somit wäre es plausibel anzunehmen, dass es tatsächlich zu einer Art Nanopartikelmonolage auf der Kristallisationslösung kommt. Die auf dem Glassubstrat gewachsenen kleineren Rhomboeder konnten allerdings aufgrund ihres geringen Durchmessers nicht mit der Raman-Methode

untersucht werden. Hier kann leider nur gemutmaßt werden, dass diese durch kolloidal gelöste Nanopartikel ohne einen Templateffekt entstanden sein müssen. Jedenfalls wäre hier ein ähnlicher Mechanismus denkbar wie bei den Resultaten von Kowalczyk et al. (266). Jedoch scheint die Frage noch ungeklärt zu sein, weshalb außer einer Größenbeeinflussung lediglich die {104}-Flächen inhibiert werden. Im folgenden Abschnitt wird der Einfluss eines weiteren Nanopartikelsystems diskutiert, welches sich von dem besprochenen etwas unterscheidet und zu gänzlich unterschiedlichen Resultaten führte.

3.3.2 Au@Fe_xO_y@SiO₂-Nanosphäroide als Wachstumsmodifizierer

Durch die Verwendung der 11-MUA funktionalisierten Au@Fe_xO_y@SiO₂-Januspartikel wurde die Anisotropie in Bezug auf die Gestalt im Vergleich zu den Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen reduziert, jedoch die anisotrope Funktionalisierung beibehalten. Insofern war zu erwarten, dass die Nanopartikel kein makroskopisches Templat über eine interpartikuläre Selbstanordnung bilden, sondern nur im Nanometerbereich über ihre funktionellen Gruppen mit dem Mineral wechselwirken. Dieses System dient der Diskussion von grundlegenden Fragestellungen, z.B. wie Carboxylat-SAMs auf Nanosphären den Habitus von Mikrokristallen beeinflussen und welche Flächen sie stabilisieren. Während die Au-Domäne den „Anker“ zum Mineral bildet, übernimmt die Metalloxid/Silica-Domäne den nicht wechselwirkenden löslichkeitsvermittelnden Part, der gleichzeitig durch den eingebauten Fluoreszenzfarbstoff die Möglichkeit bietet, die Adsorption auf dem Mineral sichtbar zu machen. Erst kürzlich konnten Liu et al. den Einbau von Gold- und Magnetit-Nanopartikeln in Calcit zeigen. (291) Allerdings verwendeten die Autoren Hydrogele, um die Nanopartikel in das wachsende Mineral hinein zu dispergieren. Ohne Gel adsorbierten die Poly(vinylpyrrolidon) (PVP)-funktionalisierten Au-Nanopartikel auf den {104}-Flächen, ohne diese weiter zu verändern. Wie man auf den SEM-Nachweisen in Abb.57 erkennen kann, verändern auch die 11-MUA-funktionalisierten Au@Fe_xO_y@SiO₂-„Nanoflowers“ die rhomboedrische Gestalt der Calcite nicht. Stattdessen adsorbieren die Januspartikel (Größenordnung 30-50 nm) auf den {104}-Flächen. Allerdings fällt auf, dass es auf beiden Seiten der längeren Diagonale einer Fläche eine unterschiedliche Belegungsdichte gibt. Die Ursache konnte leider nicht geklärt werden. Zusätzlich zu den

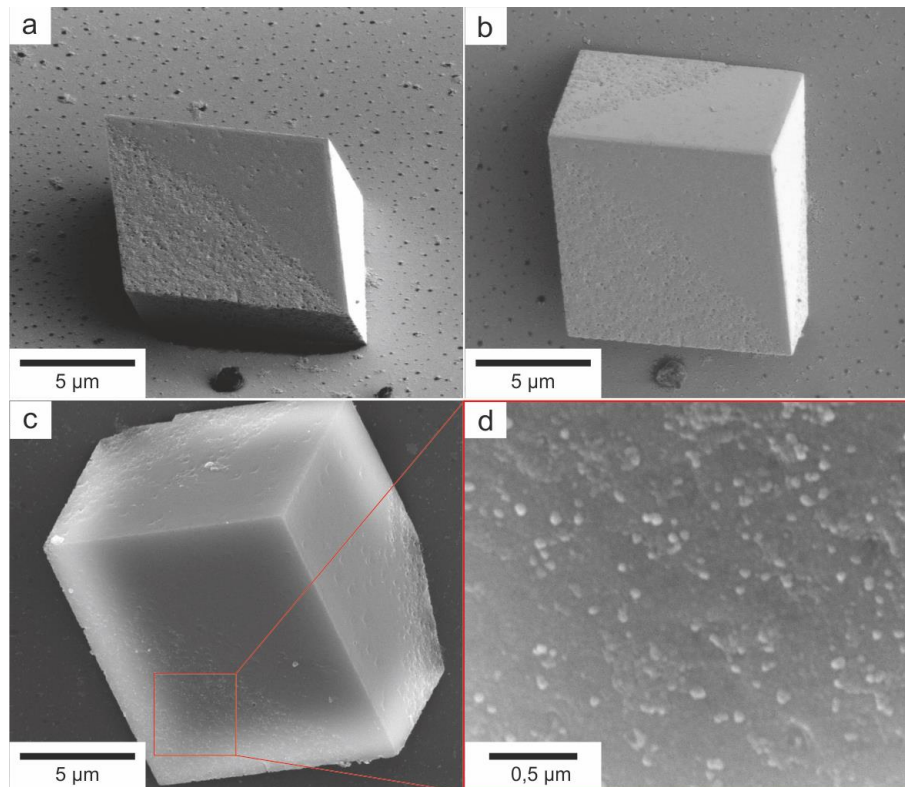


Abb. 57 SEM-Kippserie eines Calcitthomboeders mit oberflächlich adsorbierten 11-MUA-funktionalisierten $\text{Au@Fe}_x\text{O}_y\text{@SiO}_2$ -„Nanoflowers“, (d) Detailaufnahme der (104)-Fläche zeigt einzelne Nanopartikel in der Größenordnung von 30-50 nm

adsorbierten Nanopartikeln existieren auf den Flächen sogenannte *etch pits*. Diese „Löcher“ sind wenige Atomlagen tief und bilden in ihrer Form die rhomboedrische Gestalt der Oberfläche ab. Die *etch pits* werden durch Stufenkanten begrenzt, die parallel zu den beiden Richtungen $[\bar{4}41]$ und $[48\bar{1}]$ orientiert sind. (292) Bedingt durch die äußere Gestalt des Rhomboeders besitzen die zueinander parallelen Stufenkanten einen stumpfen Winkel von 102° und einen spitzen Winkel von 78° zwischen den begrenzenden $\{104\}$ -Flächen. Daher gibt es bzgl. der parallelen Stufenkanten eine Anisotropie bzgl. der Auflösung, d.h. beide Kanten lösen sich unterschiedlich schnell auf. Da sich der Wachstums- und der Auflösungsmechanismus analog zueinander verhalten, kann über die Form der *etch pits* auch eine Aussage über das Kristallwachstum getroffen werden. Da die Stufenkanten mit gleichem Winkel zueinander benachbart sind, findet man häufig eine Abrundung der sich schneller auflösenden 102° gewinkelten Stufenkanten. Die Längsdiagonale des rhomboedrischen *etch pits* unterteilt dabei den Bereich der abgerundeten und der geraden Stufenkanten, sodass man aufgrund der Ausrichtung der anisotropen *etch pits* die Orientierung ermitteln kann. Kristallographisch bezeichnet die Längsdiagonale die $[\bar{1}20]$ -Richtung, welche der a-Achse entspricht (Abb.58).

(285)

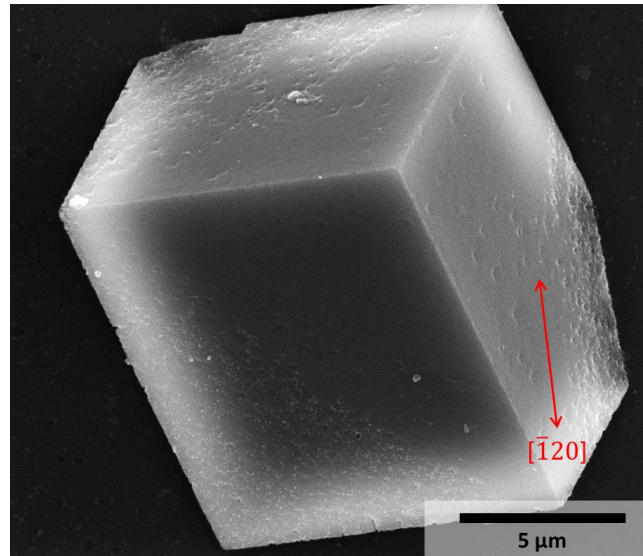


Abb. 58 SEM-Aufnahme des Calcit-Rhomboeders mit mutmaßlicher $[\bar{1}20]$ -Richtung (a-Achse), welche die Längsdiagonale der auf der Oberfläche sichtbaren etch pits bildet

Die etch pits zeigen mit ihren spitzen Stufenkanten vom Substrat aus weg nach oben, die schnell wachsenden abgerundeten Kanten zum Substrat hin. Eine mögliche Ursache für die unterschiedliche Belegungsdichte könnte die im Laufe der Reaktion stattfindende Verarmung an Nanopartikeln durch Aggregation mit Ca^{2+} -Ionen sein, die sich dadurch bemerkbar macht, dass die auf dem Glassubstrat heterogen nukleierten Calcite mit zunehmendem Wachstum nach oben hin „ausheilen“. Dass dennoch etch pits auf den Oberflächen auftreten, spricht dafür, dass die Lösung zunehmend an Ca^{2+} -Ionen verarmt und diese durch die Nanopartikel gebunden werden. Dies ist auch auf den SEM-Nachweisen (Abb.57a) an den Partikelaggregaten auf dem Substrat zu erkennen. Es scheint so zu sein, dass die Nanopartikel sowohl auf die $\{104\}$ -Flächen adsorbieren, als auch interpartikuläre Aggregate bilden. Dieses Verhalten hängt empfindlich von den Konzentrationsverhältnissen als auch von der Wachstumskinetik der Kristalle ab. Die in Abb.57 und Abb.58 gezeigten Kristalle wurden mit einem fokussierten Ionenstrahl aufgeschnitten (FIB-Cut) und seitlich mit dem SEM untersucht. Die Aufnahmen lassen keine Veränderungen der Morphologie zu Referenz-Einkristallen erkennen, wobei anzumerken ist, dass durch das Schneiden und Polieren keine Aussage über den Einbau von Nanopartikeln auf diesen Aufnahmen getroffen werden kann. Die durch die Adsorption der Nanopartikel entstandene inhomogene Oberfläche ist auch auf den seitlichen Aufnahmen zu erkennen (Abb.59b). Dass es aber dennoch zu einer Wechselwirkung zwischen der amorphen mineralischen Phase und den funktionalisierten Nanopartikeln kommt, belegen TEM-Aufnahmen, die aus einem frühen Stadium der Kristallisation entnommen wurden (Abb.60). Bei der mineralischen Komponente scheint es sich aufgrund der Morphologie um eine flüssig-

amorphe Vorstufe zu handeln, die die Nanopartikel umschließt. Interessanterweise finden sich keine Partikel außerhalb des flüssig-amorphen Bereichs, was auf eine Wechselwirkung und

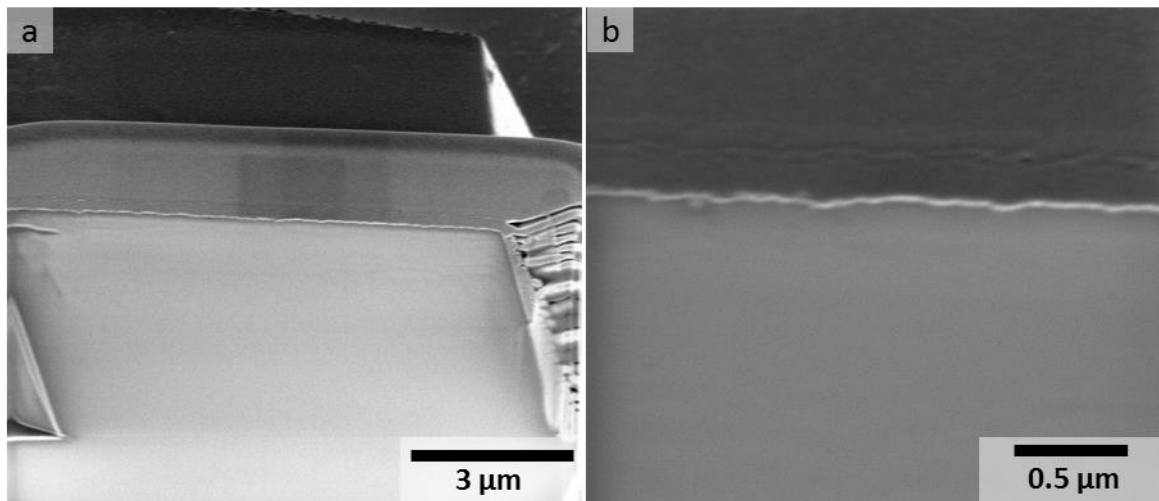


Abb. 59 (a) FIB-Cut SEM-Aufnahme des in Abb.58 gezeigten Calcits mit Pt-Schicht zur Fixierung, (b) die helle Linie bildet die Grenzschicht und zeigt eine ungleichmäßige Calcit-Oberfläche

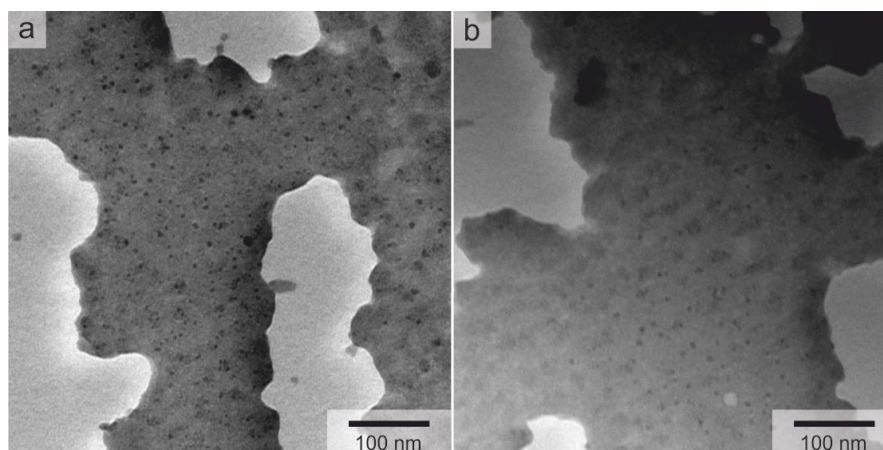


Abb. 60 TEM-Aufnahme der in der flüssig-amorphen Calciumcarbonat-Phase eingebetteten 11-MUA funktionalisierten Au@Fe_xO_y@SiO₂-„nano-flowers“

eine evtl. Stabilisierung dieser mineralischen Vorstufe schließen lässt. (293) Diese Ergebnisse zeigen zum einen, dass die Au-Domänen mit hoher Wahrscheinlichkeit Carboxylat-terminiert sind, und sich diese Partikel evtl. als Ersatz für polymere Additive verwenden lassen, um flüssig-amorphe Phasen zu stabilisieren. Aufgrund der langen Kristallisationsdauer wurden nur Calcite mit der typischen rhomboedrischen Gestalt erhalten. Dass es prinzipiell möglich ist, isotrop Carboxylat-funktionalisierte sphärische Nanopartikel in ein Wirtsgitter einzubauen, ist Bestandteil des nächsten Kapitels. Dabei wick auch die Morphologie der dabei erhaltenen CaCO₃-Polykristalle vom klassischen Einkristallrhomboeder ab. Für den Fall der hier behandelten „flower-like“-Januspartikel (Au@Fe_xO_y@SiO₂) lässt sich eine Adsorption auf die

{104}-Flächen mit partieller Stabilisierung von Wachstumsstufen feststellen. Auch für die Januspartikel mit sphäroider Gestalt ($\text{Au@Fe}_3\text{O}_4\text{@SiO}_2$) ergeben sich ganz ähnliche Einflüsse auf die Oberflächenbeschaffenheit der Calcitkristalle. Die SEM-Aufnahmen in Abb.61d und e zeigen wiederum Rhomboeder mit anhaftenden Partikelaggregaten und Löchern. Zusätzlich sind die terminalen Stufenkanten der {104}-Flächen stabilisiert. Aus der Literatur ist bekannt, dass Monocarbonsäuren mit ihren Carboxylatgruppen stark an die $(104) \times (01\bar{4})$ Stufenkanten anbinden. (294) Dies trifft auch für die Carboxylat-terminierten Januspartikel zu. Die FITC-markierten Januspartikel konnten mittels hochauflösender konfokaler Fluoreszenzmikroskopie auf den Stufenkanten nachgewiesen werden (Abb.61a-c). Um Effekte durch Reflektion an Kanten auszuschließen, wurde der Calcit auf einem roten und einem grünen Kanal aufgenommen. Die Bilder zeigen jeweils die oberste Lage des durchgeführten z-Scans und entsprechen der in (a) dargestellten Fokussierung auf die obere Kante. Für den grünen Kanal

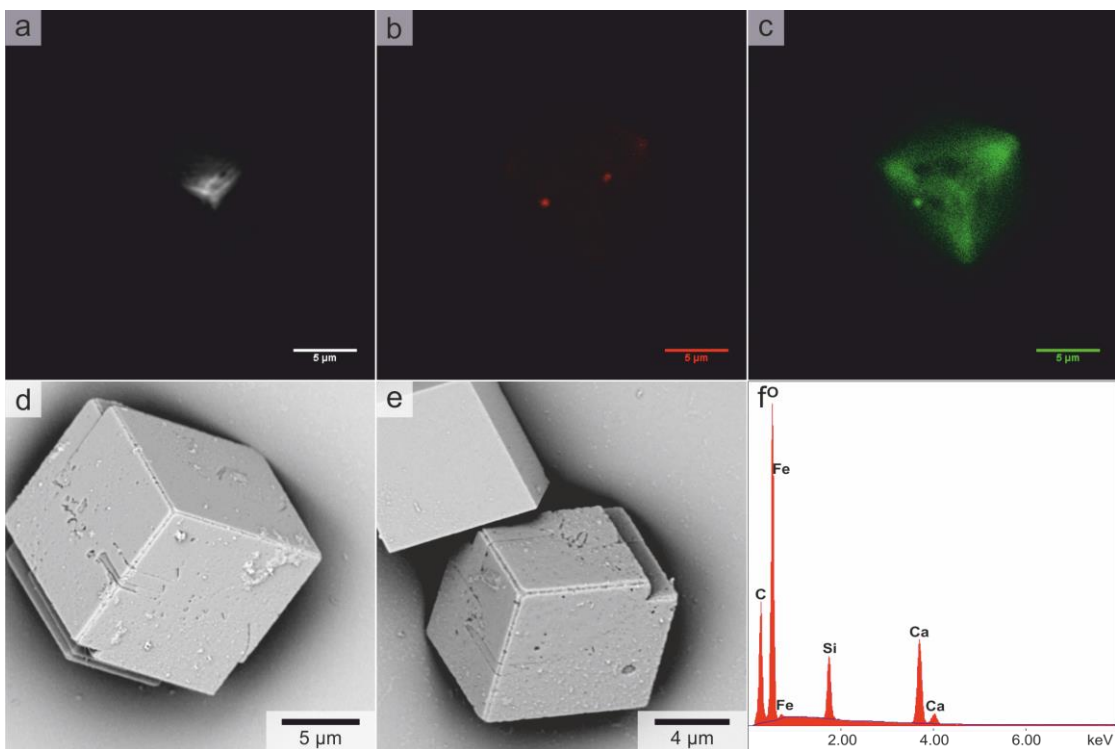


Abb. 61 (a-c) Hochaufgelöste konfokale Fluoreszenz-mikroskopische Aufnahmen eines Calcit-Rhomboeders mit adsorbierten FITC-markierten $\text{Au@Fe}_3\text{O}_4\text{@SiO}_2$ -Januspartikeln ohne Filter (a) und auf dem roten (b) und grünen (c) Kanal, Skala je 5 μm (d-e) dazugehörige SEM-Aufnahmen und (f) SEM-EDX Spektrum mit einer schwachen Fe-L α Linie (0.7 keV)

ist eine deutliche Fluoreszenz der Nanopartikel vorwiegend an den Stufenkanten zu erkennen. Passend dazu zeigt das SEM-EDX Spektrum eine schwache Fe-L α -Linie bei 0.7 keV. Somit scheint auch für die sphäroiden Nanopartikel die Anbindung über die 11-MUA-Liganden trotz der sehr kleinen Au-Domäne möglich zu sein. Daraus folgt zum einen, dass die Silica-

Funktionalisierung ausschließlich selektiv um die Fe_3O_4 -Domäne stattfindet und die Au-Domäne über die Carboxylat-Funktionalisierung elektrostatisch an das Mineral bindet. Alternativ könnte aber auch eine Wechselwirkung zwischen der Silica-Hülle und dem Mineral bestehen, die aber eher schwacher Natur wäre. Diese Fragestellung, welche Ursache nun hinter der Oberflächenbelegung steckt, bleibt weiterhin offen. Bisher wurde nur die einseitige anisotrope Wechselwirkung zwischen Additiv und Mineraloberfläche betrachtet. Die zweite Domäne des Partikels sollte dabei nur als löslichkeitsvermittelnder Part dienen. Dabei konnte allgemein eine Wechselwirkung der Partikel mit den Stufenkanten des Minerals bewiesen werden. Die Frage nach dem Einbau bleibt weiterhin unbeantwortet und wäre Gegenstand weiterer Untersuchungen mittels TEM-Lamelle. Ein Weg, den Einbau von Nanokristallen in ein Wirtsgitter zu erzwingen ist die isotrope Funktionalisierung der größeren Metalloxiddomäne mit einem doppelhydrophilen Co-Polymer wie dem hier verwendeten AA₂₀-co-AMPS₈₀-Polymer. Die Möglichkeit des Einbaus von Magnetit-Nanopartikeln in Calcit mittels Block-co-Polymeren konnte bereits erfolgreich von Meldrum et al. kürzlich gezeigt werden. (233) Das hier verwendete AA-AMPSNa-Copolymer zeigte in der Arbeit von Dietzsch et al. bereits einen Wachstums-inhibierenden Effekt auf die Kristallisation von CaCO_3 . (205) Die Wechselwirkung des Polymers mit der Nanopartikeloberfläche basiert auf der Anbindung der Acrylsäureeinheiten an die Fe_3O_4 -Domäne durch Substitution der Ölsäure-Schutzliganden, wobei dieser Schritt entropisch begünstigt ist. Die Natrium-Sulfonat-Einheiten vermitteln die Löslichkeit der Partikel in polaren Lösemitteln. Die SEM-Aufnahmen der durch das Polymer stabilisierten Heterodimere als Additive entstandenen Calcite zeigen starke Abrundungen an den Kanten und Ecken des Rhomboeders (Abb.62b-c). Analog zu den Resultaten von Meldrum et al. ähneln die Morphologien denen von mesoskopisch strukturierten Kristallen, wie sie auch z.B. für Poly(Natrium-4-Styrolsulfonat) auftreten. (295) (296) Hiernach haben also auch Sulfonsäuregruppen einen stabilisierenden Einfluss auf das Biomineral Calcit. Obwohl von diesen Kristallen leider keine TEM-Lamelle präpariert wurde, kann aufgrund der nahezu identischen Vorgehensweise und der Resultate davon ausgegangen werden, dass die Heterodimere mithilfe der Sulfonsäuregruppen in das Wirtsgitter eingebaut werden. Zum Vergleich sind ebenfalls nochmals die Kristallisationsergebnisse für die Carboxylat-funktionalisierten Nanopartikel auf den SEM-Aufnahmen dargestellt (Abb.62d-e). Es zeigt sich, dass die polymerstabilisierten Januspartikel einen wesentlich größeren Einfluss auf die Morphologie der Calcite haben als die partiell geladenen Carboxylat-funktionalisierten

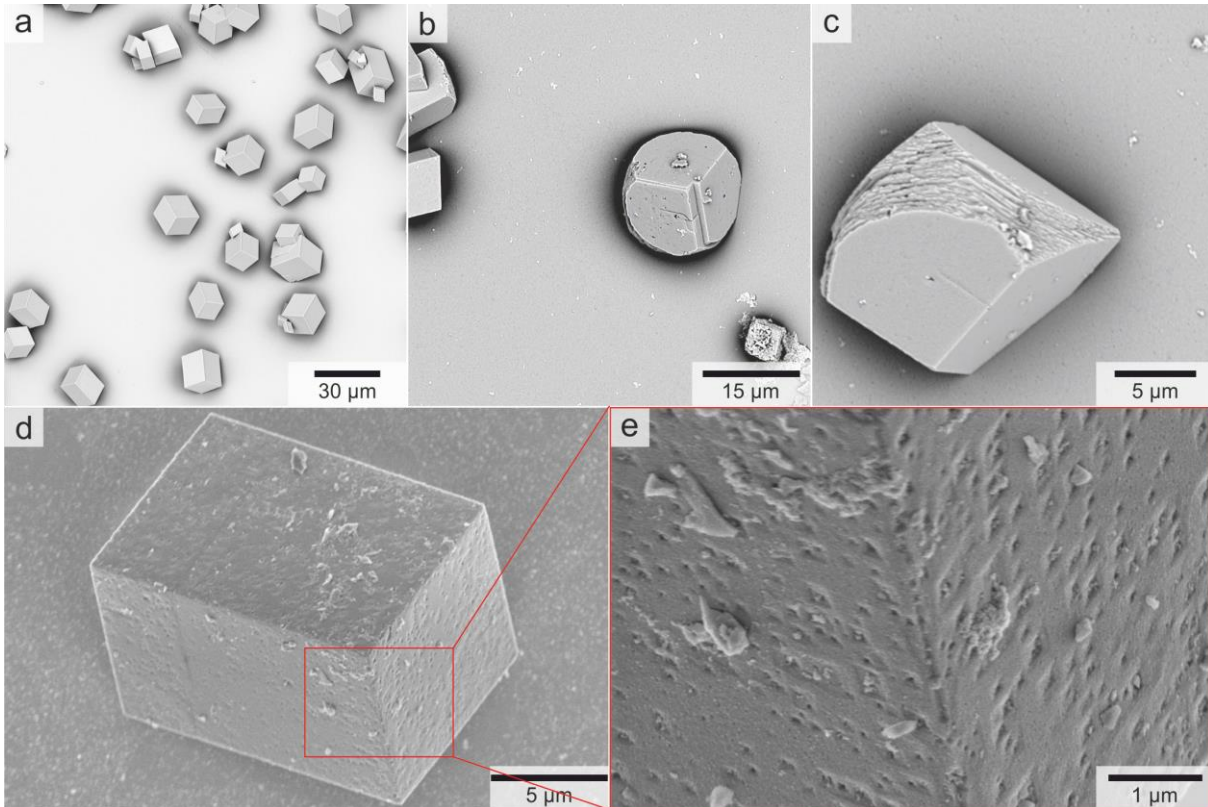


Abb. 62 (a) SEM-Aufnahme der Calcit-Referenz zeigt rhomboedrische Kristalle, (b-c) Einfluss der Polymerfunktionalisierten Au@Fe₃O₄-Heterodimere auf die Morphologie der Calcite, die wie in (b) zu erkennen ist, in [001]-Richtung inhibiert sind, (d-e) zum Vergleich die Carboxylat-funktionalisierten Au@Fe₃O₄@SiO₂ Nanopartikel, gut zu erkennen sind die etch pits auf den {104}-Flächen

Nanopartikel. Die analogen modifizierenden Eigenschaften zwischen den Polymeren und den polymer-stabilisierten Januspartikeln lassen sich zum einen mit der wesentlich höheren Dichte funktioneller Gruppen begründen und zum zweiten mit der partiellen Vernetzung der Partikel untereinander über die Polymerketten, wie dies auch aus den DLS-Daten (s. Kap. 2) ersichtlich ist. Allerdings verhalten sich diese Januspartikel mehr oder weniger wie die sphärischen Magnetit-Nanopartikel von Meldrum, da die Fe₃O₄-Domäne aufgrund ihrer Größe im Verhältnis zur Au-Domäne das Geschehen dominiert. Interessant in diesem Zusammenhang ist dennoch die Möglichkeit, die Partikel über die Au-Domäne nachträglich amphiphil zu funktionalisieren oder mit Biomolekülen auszustatten. Die selektive Funktionalisierung der Au-Domäne mit Anker-molekülen für CaCO₃ lässt sich unter diesen Bedingungen nur bei ausreichend großer Au-Domäne realisieren, worauf die flüssig- amorphen CaCO₃-Frühphasen unter dem Einfluss der verzweigten „flower-like“- Au@Fe_xO_y@SiO₂-Nanopartikel hindeuten. Die leichter zu realisierende Variante ist die in Kap. 3.3.3 diskutierte Verwendung isotrop funktionalisierter monodisperser Au-Kolloide.

3.3.3 Isotrope Au-Kolloide als Wachstumsmodifizierer

Die bisherigen Betrachtungen bzgl. anisotroper Einflüsse auf die Modifizierung des Kristallwachstums sollen in diesem Abschnitt mit den Resultaten isotrop funktionalisierter Au-Kolloide als Additive des Kristallwachstums verglichen werden. Die hierfür verwendeten monodispersen 4 nm großen Kolloide wurden dazu mit einem Carboxyl-SAM aus 11-MUA-Liganden versehen und stellen somit ein wohldefiniertes System dar, welches eine Erweiterung zu den klassischen Substrat-SAMs bildet, deren Wirkung auf Calciumcarbonat bereits hinreichend untersucht worden ist. (297) (261) Eine Arbeit von Küther et al. zu p-Mercaptophenol-funktionalisierten Kolloiden ergab polykristalline Calcit-Sphäroide in der Größenordnung von 10 μm , die aus vielen kleinen radial in jeweils [001]-Richtung orientierten Calcit-rhomboedern aufgebaut waren. Unter basischen Bedingungen zeigten die Calcitkristalle dagegen eine inhibierte Morphologie. (155) Aus diesen Befunden ergeben sich einige offene Fragestellungen. Zum einen scheint die Form des SAMs eine entscheidende Rolle für die Nukleation und die Stabilisierung gewisser Flächen zu spielen. Insofern ist die Morphologie des Templats bei ansonsten gleichen funktionellen Gruppen der entscheidende Faktor. Zum anderen stellt sich die Frage, welche Mechanismen dem Wachstum zugrunde liegen. Wie es im Innern dieser Sphären aussieht, konnte in der Arbeit von Küther et al. nicht vollständig geklärt werden. Um diese Fragestellungen näher zu untersuchen, wurden die Kristallisationen mit den 11-MUA-funktionalisierten Au-Kolloiden durchgeführt. Zur Stabilisierung der so funktionalisierten Kolloide in wässriger Lösung wurde eine wässrige Nanopartikeldispersion mit wenigen Tropfen konzentrierter NaOH-Lösung versetzt. Danach zeigten die Partikel eine gute kolloidale Stabilität und wurden mit drei unterschiedlichen Konzentrationen, 0.05 g/L, 0.1 g/L und 0.2 g/L zusammen mit einer 5 mM CaCl_2 -Lösung mittels der ADM zur Kristallisation gebracht. Wie man auf den SEM-Aufnahmen in Abb.63a-c erkennen kann, entstehen bei 0.05 g/L an zugesetzten Carboxylat-terminierten Au-Kolloiden ähnlich wie bei Küther et al. sphärolitische Calcit-Polykristalle mit einem Längsdurchmesser von ca. 15 μm , die auf ihrer Oberfläche aus vielen kleinen radial in [001]-Richtung orientierten rhomboedrischen Kristalliten bestehen. Die Polykristalle zeigen in der Mitte eine oder zwei „Einschnürungen“, die auf einen Wachstumsmechanismus analog zu den Fluorapatit-Hanteln von Kniep und Busch hindeuten. (116) Charakteristisch für diese Morphologien ist deren Spiegelsymmetrie senkrecht zur Längsachse durch den Kristall. Das Wachstum wird dabei nach dem Prinzip der hierarchischen Selbstähnlichkeit beschrieben, wobei jede Generation epitaktisch auf der

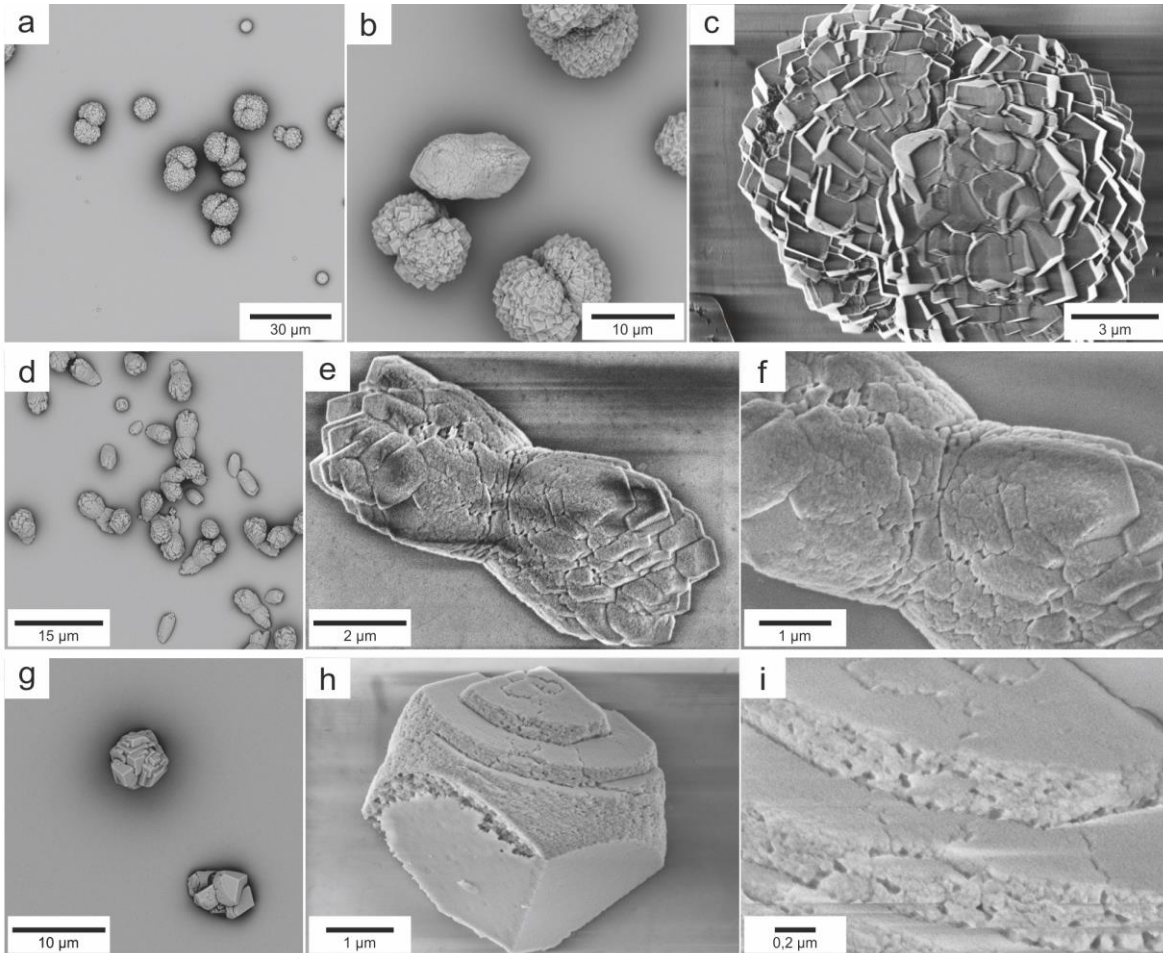


Abb. 63 Übersichts- und Detail-SEM-Aufnahmen jeweils von links nach rechts in einer Reihe der bei einer Konzentration an Au-Kolloiden von $c = 0.05$ g/L (a-c), 0.1 g/L (d-f) und 0.2 g/L (g-i) entstandenen Calcite mittels der ADM-Methode, $c(\text{Ca}^{2+}) = 5$ mM

vorherigen unter denselben Voraussetzungen, wie z.B. dem Öffnungswinkel, aufwächst, sodass sich schließlich über die Hantel-Zwischenstufe eine homogene Kugel bildet. Dieses Prinzip ist aus der makromolekularen Chemie bei den Dendrimeren bekannt. Eine ausführliche Beschreibung dieser bietet der Artikel von Tomalia et al. (298) Generell werden von Kniep und Busch zwei mögliche Mechanismen zur Ausbildung dieser Aggregate vorgeschlagen, wobei diese auch parallel vorliegen können. Zum einen durch ein organisiertes Kompositsystem aus organischer Matrix und anorganischer Komponente, die epitaktisch miteinander verknüpft sind. Dieses Prinzip findet man häufig in der Natur. Zum anderen durch eine Dipolmoment induzierte Selbstaggregation einzelner Kristallite. Die Calcit-Kristalle mit der mittleren Konzentration an Au-Kolloiden (0.1 g/L) sind mit einem Längsdurchmesser von ca. 8.5 µm gegenüber den sphärolitischen Polykristallen deutlich in ihrem Wachstum inhibiert und auf der Stufe der Hantelbildung stabilisiert. Die endständigen Rhomboeder weisen erkennbar eine Orientierung entlang der c-Achse auf, was auf eine Stabilisierung der Hantel entlang der dazu parallelen

{1 $\bar{1}$ 0}-Flächen deutet (Abb.63d-f). Offensichtlich wird dieser Befund besonders bei den kleineren zylindrischen Kristallen, wie sie nochmals in Abb.64 (a) gezeigt sind. Diese weisen erkennbar identische morphologische Merkmale zu denen von Mann et al. synthetisierten Calcit-Kristallen in Gegenwart von Malonaten auf (Abb.64b). (299) Die Kristalle besitzen eine abgerundete Morphologie, weswegen die Festlegung auf die prismatische {1 $\bar{1}$ 0}-Fläche erster Ordnung, wie auch Mann bemerkt, eher pseudo-spezifisch ist. Ein charakteristisches Merkmal dieser exprimierten Flächen sind deren senkrecht zur Oberfläche orientierten Carbonat-Ionen. Aus der [1 $\bar{1}$ 0]-Richtung betrachtet, beträgt die Distanz zweier nicht coplanarer Carbonate 4 Å und entspricht damit dem Abstand der Carboxylate im Malonat-Anion (Abb.65a), sodass das Molekül in der Lage ist, auf die {1 $\bar{1}$ 0}-Flächen zu adsorbieren. Ein weiterer Vergleich lässt sich zu der Arbeit von Mao et al. für die von den Autoren erstellte morphologische Landkarte für Calciumcarbonat unter dem Einfluss der Äpfelsäure anstellen, die von den Parametern wie der Konzentration, der Zeit und dem pH-Wert abhängt. Allerdings verwendeten die Autoren

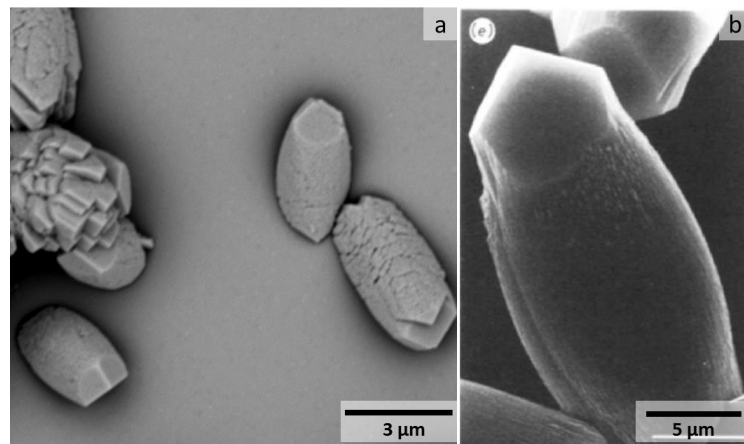


Abb. 64 (a) In [001]-Richtung elongierte Calcit-Kristalle, $c(\text{Au}) = 0.1 \text{ g/L}$, (b) Malonat-inhibierter Calcit-Kristall mit gleicher Orientierung, modifiziert übernommen aus (299)

eine andere Kristallisationsmethode in Gegenwart von Harnstoff bei 90 °C, sodass die Resultate trotz ihrer morphologischen Ähnlichkeit nicht exakt miteinander zu vergleichen sind. Dennoch wurden in Abhängigkeit der verschiedenen Parameter hantel- und kugelförmige Calcit-Polykristalle erhalten. (300) Deren Elongation entlang der c-Achse wird der Stabilisierung der {011}-Flächen zugeschrieben (Abb.65b). (301) Ganz analoge Mechanismen lassen sich somit für die Carboxylat-funktionalisierten Au-Kolloide formulieren. Durch den Vergleich der Kristalle bei den beiden niedrigen Konzentrationen (0.05 und 0.1 g/L) kann man für deren Entstehung schlussfolgern, dass die doppelte Additivkonzentration die Hantelform durch eine

großflächige Adsorption auf die zur c-Achse parallelen Flächen stabilisiert, sodass nur an den jeweiligen Enden Rhomboeder mit abgerundeten Kanten zu erkennen sind.

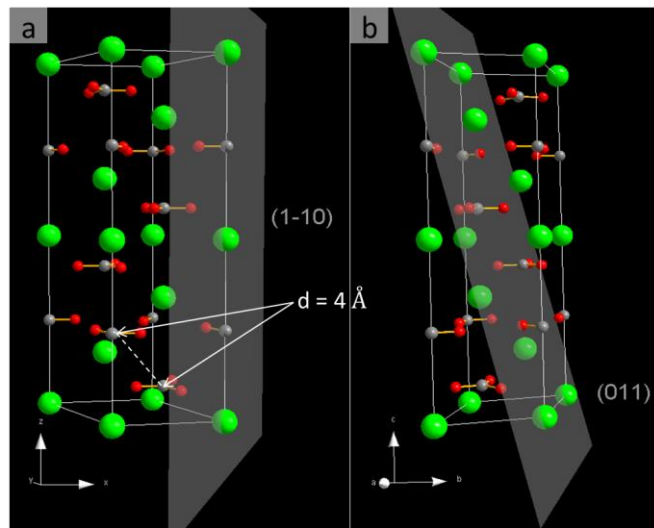


Abb. 65 Visualisierte Elementarzelle von Calcit mit dem Programm *Diamond* nach den Strukturdaten von Caspi et al. (302) mit eingezeichneter (1-10) (a) und (011)-Fläche (b), die durch α - ω -Dicarboxylate stabilisiert werden (34)

Das Kristallwachstum wird hier stärker inhibiert. Dagegen bilden sich bei der niedrigeren Konzentration „anisotrope Kugeln“ aus, deren Entstehungsgeschichte nach dem Prinzip der hierarchischen Selbstähnlichkeit durch die Kippung der Rhomboeder entlang einer sphärischen Oberfläche sichtbar ist. Die Rhomboeder zeigen nach außen die typische $\{104\}$ -Flächenbegrenzung. Da, wie in Abb.63 (h) und (i) zu erkennen, bei den einzelnen Rhomboedern die $\{1\bar{1}0\}$ -Flächen durch die geladenen Au-Kolloide stabilisiert werden, ist eine elektrostatisch vermittelte Selbstaggregation dieser Kompositbausteine mit hoher Wahrscheinlichkeit die Ursache für die Ausbildung der kugelförmigen Morphologien. Dabei wirken die Au-Kolloide als „Kleber“ zwischen den mineralischen Bausteinen und mimen damit perfekt ein Prinzip der Biomineralisation nach. Dabei ist allerdings die Konzentration des Additivs entscheidend. Bei den Kugeln scheint die Inhibierung gerade so stark oder schwach zu sein, dass eine Stabilisierung letztendlich durch Zusammenlagerung der partiell inhibierten Flächen zustande kommt, wodurch sich über mehrere Generationen hinweg die Kugelmorphologie ausbildet. Durch die höhere Additivkonzentration werden die im Schnitt fast nur halb so großen Hanteln auf dieser früheren Wachstumsstufe stabilisiert. Diese Kristallisationsreihe bietet deshalb die Möglichkeit, die verschiedenen Wachstumsstufen nachzuvollziehen. Die SEM-Aufnahme in Abb.63 (f) beweist, dass auch die Mitte strukturell polykristallin ist. Teilweise kann man sogar die abgerundeten Rhomboeder-Kristallite erkennen. In dieser Diskussion stellt sich die Frage,

wo genau sich die Au-Nanopartikel befinden und welchen Anteil diese bei der Nukleation und beim Wachstum der „anisotropen Sphärolite“ haben. Zunächst wurden dazu die größeren Kugeln (0.05 g/L Au-Addition) mittels SEM-EDX, μ -Raman-Spektroskopie und hochaufgelöster konfokaler Fluoreszenzmikroskopie untersucht. Die SEM-EDX-Aufnahme der Kugeloberfläche zeigt neben den Linien von CaCO_3 und dem Glassubstrat auch die $\text{AuM}\alpha$ -Linie bei 2.1 keV (Abb.66b). Eine weitere Oberflächenanalytik wurde mittels konfokaler μ -Raman-Spektroskopie durchgeführt. Die beiden E_g -Gitterschwingungen von Calcit bei 155 und 281 cm^{-1} sind für den Kompositkristall etwas zu kleineren Wellenzahlen bei 147 bzw. 271 cm^{-1} verschoben. Diese deuten auf durch die Au-Kolloide induzierten Defekte im Wirtsgitter hin. Die ν_4 -Deformationsschwingung liegt wie bei der Referenz bei 712 cm^{-1} , ebenso die voll symmetrische A_{1g} -Valenzschwingung bei 1086 cm^{-1} (Abb.66a). (106) (303) Interessanterweise findet man bei den hantelförmigen Calciten ein verbreitertes Signal mit einem Maximum bei 1590 cm^{-1} . Diese Bande passt zu der in der Literatur bei 1600 cm^{-1} für die

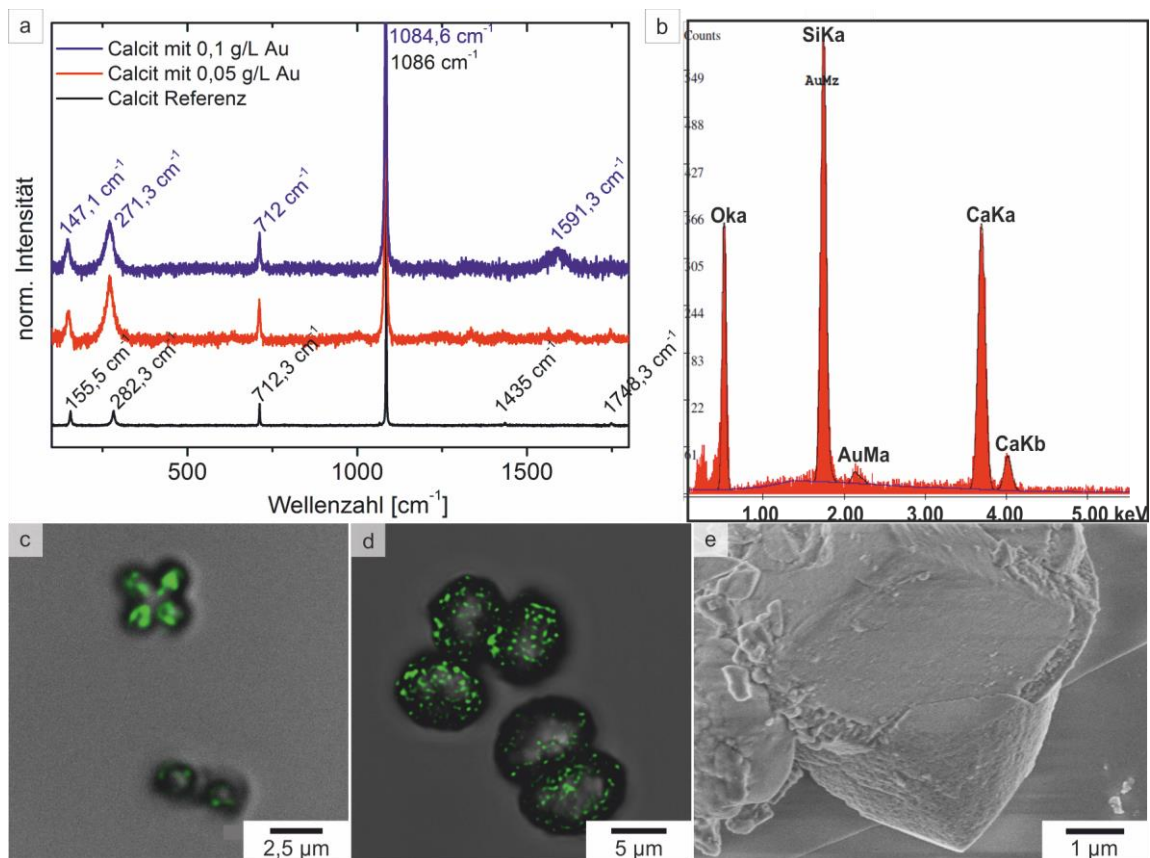


Abb. 66 (a) μ -Raman-Spektren eines Calcit-Referenzkristalls und der Au/CaCO_3 -Kompositkristalle mit 0.05 und 0.1 g/L an zugesetzten Au-Kolloiden, norm. auf Intensität bei 1086 cm^{-1} (b) SEM-EDX der Kugeloberfläche eines Kompositkristalls mit erkennbarer $\text{AuM}\alpha$ -Linie bei 2.1 keV, (c,d) konfokale Fluoreszenzmikroskop-Aufnahme mit sichtbarer Reflexion der Au-Nanopartikel mit 0.2 g/L (c) und 0.05 g/L (d) durch einen roten Bandpassfilter (629-762 nm) im Falschfarbbild, (e) SEM-Aufnahme eines terminalen Calcitrhomboiders

Kopplung der Plasmonenresonanzen von Gold-Dimeren an der Zwischengitterlücke angegebenen Wellenzahl. (304) (289) Im Gegensatz dazu ist diese Bande bei den Calcit-Kugeln nur mit sehr geringer Intensität zu erkennen, was ein klares Indiz für die stärkere Oberflächenadsorption der Au-Kolloide auf den Hanteln bei höherer Au-Konzentration ist. Die Au-Nanopartikel zeigen aufgrund ihrer Oberflächenplasmonenresonanz (SPR) einen starken Streubeitrag in Reflektion, wenn sie im roten Wellenlängenbereich angeregt werden, wodurch sie unter anderem zur Zellmarkierung verwendet werden können. (305) (306) Auf den Kompositkristallen konnten diese mittels hochaufgelöster konfokaler Fluoreszenzmikroskopie mit einer Anregungswellenlänge von $\lambda_{exc.} = 633 \text{ nm}$ und einem Bandpassfilter von 629-762 nm nachgewiesen werden. Wie auf den Aufnahmen in Abb.66 (c) und (d) jeweils für die mit 0.2 g/L (c) und 0.05 g/L (d) addierter Au-Menge entstandenen Kompositkristalle zu erkennen ist, zeigen die beiden Falschfarbaufnahmen jeweils eine starke Reflektion der Au-Nanopartikel im roten Wellenlängenbereich an. Nach einer Verschiebung der optischen Bandpassfrequenzen waren keine Reflektionen mehr zu sehen, sodass ausgeschlossen werden kann, dass die

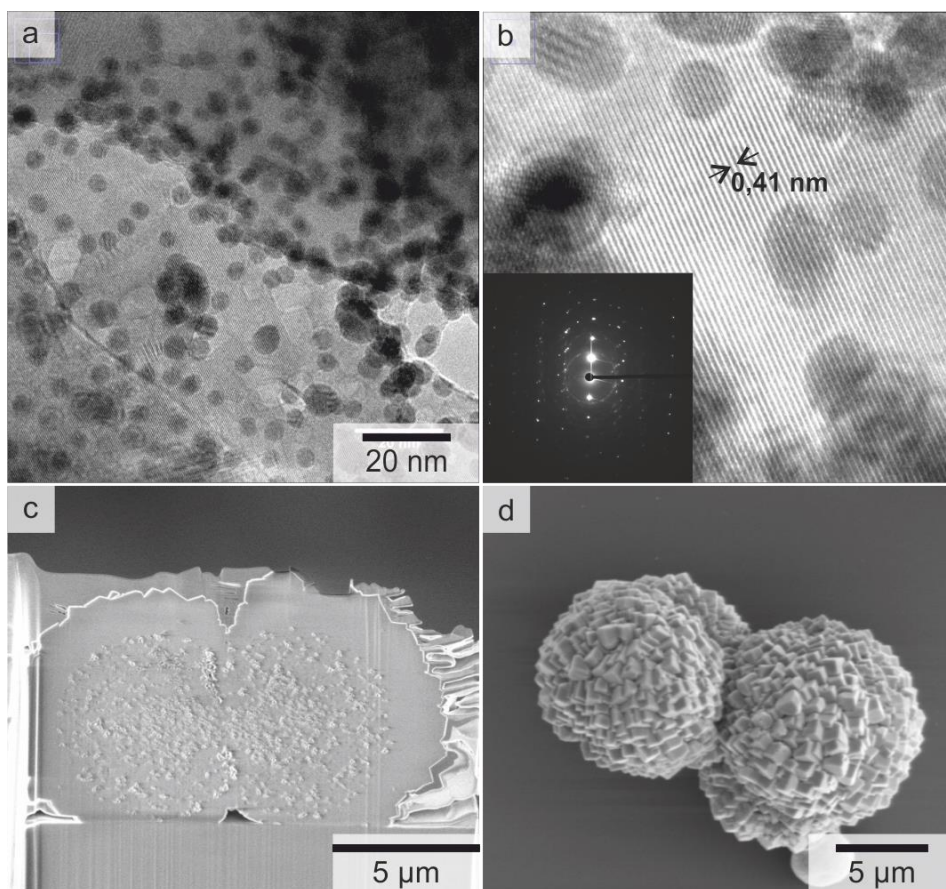


Abb. 67 (a,b) HR-TEM-Aufnahme einer dünnen Scheibe aus den Calcit-Kugeln mit in das Kristallgitter epitaktisch eingebauten 4 nm Au-Nanopartikeln und Beugungsbild (Inlet in b), (c) FIB-Cut der Calcit-Kugel aus (d) mit sichtbaren Hohlstellen im Innern des Kristalls

Reflektionen vom Calcit-Mineral stammen. Weiterhin wurde von den Calcit-Kugeln (0.05 g/L) eine TEM-Lamelle mittels FIB-cut präpariert, um den Einbau und die Verteilung der Nanopartikel im Kristall zu untersuchen (Abb.67). Die SEM-Aufnahme der entlang der Längsachse aufgeschnittenen Hantel (Abb.67c-d) lässt auch innerhalb des Kristalls einen größeren Bereich mit einer inhomogenen Strukturierung erkennen, der ab einem gewissen Abstand vom Mittelpunkt des Kristalls auszuheilen beginnt. Eine mögliche Interpretation wäre das bereits verwendete Bild der Auflösung und Rekristallisation einer metastabilen Vorstufe, wie es für die aus der vateritischen Phase unter Verwendung eines doppelt hydrophilen Block-co-Polymers (DHBC) transformierten Calcit-Hohlkugeln von Cölfen et al. beschrieben wurde. (307) Hier bestätigt sich ein weiteres Mal Analogie von organischen Polyelektrolyten und geladenen anorganischen Nanopartikeln. Aus diesem Kristall wurde eine TEM-Lamelle präpariert und mittels hochauflösender Elektronenmikroskopie untersucht (Abb.67a-b). Die Resultate demonstrieren eindrucksvoll, dass die Kolloide statistisch in das Wirtsgitter eingebaut sind, welches aus einkristallinen Domänen besteht, die sich über mehrere 100 nm erstrecken. Wie auf der hochaufgelösten TEM-Aufnahme in Abb.67 (b) zu erkennen ist, sind die Kolloide epitaktisch in das Calcit-gitter eingebaut. Der Netzebenenabstand wurde zu 4 \AA bestimmt, und stimmt damit relativ gut mit der $\{012\}$ -Netzebenenschar von Calcit ($d = 3.9 \text{ \AA}$) überein. (302) Letztere sind hochenergetische Flächen, die aus einer Ionensorte bestehen. Der Abstand zwischen den Ca^{2+} -Ionen innerhalb dieser Flächen beträgt dabei 4 \AA und passt damit perfekt zum aus der Literatur bekannten Wert für den Abstand der Carboxylgruppen eines 11-MUA-SAMs auf einer Au (111)-Fläche (ebenfalls 4 \AA). (308) Inwieweit dieses Templat wirklich die Orientierung des Kristalls beeinflusst, ist derzeit noch Gegenstand weiterer Untersuchungen. Zumindest wäre dieses perfekte Aufeinanderpassen der Molekülabstände im Sinne der molekularen Wiedererkennung eine plausible Variante. Die unregelmäßige Verteilung der Nanopartikel im Kristall deutet ebenso auf einen Mechanismus über eine flüssig-amorphe Vorstufe hin, welche schließlich unter Einbau der Partikel in die kristalline Modifikation transformiert.

3.3.4 Zusammenfassung

Für die unter Kap. 3.3.1 bis 3.3.3 vorgestellten Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass der Einfluss auf die Kristallisation von CaCO_3 von der Morphologie und der damit einhergehenden isotropen/anisotropen Funktionalisierung der verwendeten Nanopartikel abhängt. Während hochgeladene isotrop funktionalisierte sphärische Kolloide leicht in das Wirtsgitter eingebaut

werden und der Reaktionsweg über eine Selbstanordnung von Nanokristalliten gesteuert ist, beschränken sich die anisotropen Au@ZnO@SiO₂-Nanostäbchen auf eine Oberflächenmodifikation des Kristalls aufgrund von stärkeren Heterodimer-Heterodimer-Wechselwirkungen in Lösung. Dadurch wirken letztere im Kollektiv und bilden ein „flächiges“ Substrat aus, während die Au-Kolloide dazu nicht in der Lage sind und stattdessen als „punktuelle“ Substrate dienen. Die sphäroiden Au@Fe_xO_y@SiO₂ Nanopartikel sind weder das eine noch das andere und zeigen kaum einen morphologischen Einfluss. Die Fähigkeit der Partikel, sich in das Wirtsgitter einzubauen, hängt somit entscheidend von der Anzahl an stark wechselwirkenden Molekülen auf der Oberfläche der Partikel mit dem Kristall ab. Ein Indiz konnte für die Polymer-funktionalisierten Janus-Partikel gezeigt werden. Für alle Fälle lassen sich enge Parallelen zu ähnlich strukturierten organischen Molekülen herstellen. Dabei entsprechen die anisotrop Carboxylat-funktionalisierten Nanostäbchen einem SAM aus Fettsäuremolekülen, während die hochgeladenen sphärischen Kolloide einem Polyelektrolyten entsprechen. Die Verwendung der Nanopartikel hat den Vorteil, dass sie sich aufgrund ihrer intrinsischen Eigenschaften besser im Gitter lokalisieren lassen und durch ihre definierte Molekülstruktur, die variabel eingestellt werden kann, die Interpretation der Wechselwirkung mit dem Mineral erleichtern. Obwohl noch längst nicht alle einzelnen Schritte der Reaktionen geklärt sind, konnten durch die entstandenen Morphologien und eine genaue Analyse der Kristalle zumindest Rückschlüsse auf deren Entstehungsgeschichte gezogen werden.

Anhang

A1 Verwendete Geräte

TEM: Philips EM420 microscope, 120 kV acceleration voltage; FEI Tecnai F-30 TEM, 300 kV acceleration voltage with field emission and EDX and EELS detectors

SEM: FEI Nova Nano Lab 600, Dual Beam

XRD: Philips Pulver-Diffractometer, Bragg-Brentano-Geometrie, Cu-K α -Strahlung

μ -Raman: Horiba Jobin Yvon LabRAM HR 800 spectrometer, CCD-detector, Olympus BX41 optical microscope, 50x magnification with a slit width of 100 μ m, He/Ne-Laser (632.8 nm), spotsize of 2x2 μ m

LM: Keyence VK-8710 Colour 3D LSM, Nikon objectives 20, 50, 100x

ATR-FT-IR: Thermo Scientific Nicolet iS10

UV-Vis: Varian Cary 5000 UV-Vis/NIR-spectrometer

PL: Horiba Jobin Yvon-SPEX (Fluoro Max-2) fluorescence spectrometer

CLSM: Olympus AHB3 light microscope, AH3-RFC-reflected light fluorescence attachment, emission wavelength: 540 nm

DLS: Uniphase He/Ne Laser (632.8 nm, 22 mW), ALV-SP125 Goniometer, ALV/High QE APD-Avalanche photo-diode with fiber optical detection, ALV 5000/E/PCi-correlator, Lauda RC-6 thermostat unit

DFM: Zeiss Axio Observer Z1 inverted microscope with a PI542 XY-piezo stage; Inspector V10E transmissive imaging spectrograph with an Andor Luca R EM-CCD; true colour images taken with a Canon EOS 5D Mark II

2-Photon: Zeiss LSM 710 NLO microscope equipped with Non Descanned Detectors (NDDs) and a Coherent Chameleon Ultra II Ti:Sapphire Laser; image acquisition: LD C-Apochromat 40x/1.1 W Korr M27 objective, excitation at 832 nm

A2 Artikel in Fachzeitschriften

1. **PAA-PAMPS Copolymers as an Efficient Tool to Control CaCO₃ Scale Formation**

M. Dietzsch, M. Barz, T. Schüler, S. Klassen, M. Schreiber, M. Susewind, N. Loges, M. Lang, N. Hellmann, M. Fritz, K. Fischer, P. Theato, A. Kühnle, M. Schmidt, R. Zentel, W. Tremel, *Langmuir*, 2013, **29**, 3080-3088

2. **Designed peptides for biomineral polymorph recognition: a case study for calcium carbonate**

T. Schüler, J. Renkel, S. Hobe, M. Susewind, D. E. Jacob, M. Panthöfer, A. Hoffmann-Röder, H. Paulsen, W. Tremel, *J. Mater. Chem. B*, 2014, **2**, 3511-3518

3. **Silica-coated Au@ZnO Janus particles and their stability in epithelial cells**

M. Susewind, A.-M. Schilman, J. Heim, A. Henkel, T. Link, K. Fischer, D. Strand, U. Kolb, M. N. Tahir, J. Brieger, W. Tremel, *J. Mater. Chem. B*, 2015, **3**, 1813-1822

4. **Charged Gold-colloids as Nuclei for the Crystallization of CaCO₃**

In preparation

5. **Silicatein-induced formation of CaCO₃ mesocrystals**

In preparation

A3 Literaturverzeichnis

1. M. J. Olszta, X. Cheng, S. S. Jee, R. Kumar, Y.-Y. Kim, M. J. Kaufman, E. P. Douglas, L. B. Gower. *Mater. Sci. Eng. R.* 2007, **58**, 77-116.
2. S. Weiner, W. Traub, H. D. Wagner. *J. Struct. Biol.* 1999, **126**, 241-255.
3. F. Round, R. Crawford, D. Mann. *The Diatoms*. s.l. : Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK, 1990.
4. N. Kröger, S. Lorenz, E. Brunner, M. Sumper. *Science*. 2002, **298**, 584-586.
5. Zindler-Frank, E. *Z. Pflanzenphysiol.* 1976, **80**, 1-13.
6. Nakata, P. A. *Plant Science*. 2003, **164**, 901-909.
7. Khan, S. R. *World J. Urol.* 1997, **15**, 236-243 .
8. D. A. Bazylinski, R. B. Frankel. *Nature Rev. Microbiol.* 2004, **2**, 217-230.
9. Komeili, A. *Annu. Rev. Biochem.* 2007, **76**, 351-366.
10. H. A. Lowenstam, S. Weiner. *On Biomineralization*. s.l. : Oxford University Press: New York, 1989.
11. S. Mann, J. Webb, R. J. P. Williams. *Biomineralization*. s.l. : VCH Publishers, Inc.: New York, 1989.
12. C. M. Zaremba, A. M. Belcher, M. Fritz, Y. Li, S. Mann, P. Hansma, D. E. Morse, J. S. Speck, G. D. Stucky. *Chem. Mater.* . 1996, **8**, 679-690.
13. Wise, S. W. *Science*. 1970, **167**, 1486-1488.
14. A. Berman, J. Hanson, L. Leiserowitz, T. F. Koetzle, S. Weiner, L. Addadi. *Science*. 1993, **259**, 776-779.
15. J. R. Young, S. A. Davis, P. R. Bown, S. Mann. *J. Struct. Biol.* 1999, **126**, 195-215.
16. V. K. LaMer, R. H. Dinegar. *JACS*. 1950, **72**, 4847-4854.
17. Loges, N. *Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz*. 2009.
18. Perez, M. *Scr. Mater.* 2005, **52**, 709-712.
19. Nielsen, A. E. *Krist. Tech.* 1969, **4**, 17-38.

20. J. J. De Yoreo, P. G. Vekilov. *Rev. Mineral. Geochem.* 2003, **54**, 57-93.
21. R. Boistelle, J. P. Astier. *J. Cryst. Growth.* 1988, **90**, 14-30.
22. J. Park, J. Joo, S. G. Kwon, Y. Jang, T. Hyeon. *Angew. Chem.* 2007, **119**, 4714-4745.
23. Sun, S. F. *Physical Chemistry of Macromolecules.* Wiley-Interscience : s.n., 2004.
24. Reiss, H. *J. Chem. Phys.* 1951, **19**, 482-487.
25. Sugimoto, T. *Monodispersed Particles.* Elsevier Science B.V., 2001 : s.n.
26. D. V. Talapin, A. L. Rogach, M. Haase, H. Weller. *J. Phys. Chem. B.* 2001, **105**, 12278-12285.
27. Nielsen, A. E. *J. Cryst. Growth.* 1984, **67**, 289-310.
28. A. E. Nielsen, J. M. Toft. *J. Cryst. Growth.* 1984, **67**, 278-288.
29. Nielsen, A. E. *Pure Appl. Chem.* 1981, **53**, 2025-2039.
30. D. Kashchiev, D. Verdoes, G. M. van Rosmalen. *J. Cryst. Growth.* 1991, **110**, 373-380.
31. J. Gomez-Morales, J. Torrent-Burgues, R. Rodriguez-Clemente. *J. Cryst. Growth.* 1996, **169**, 331-338.
32. L. Brecevic, A. E. Nielsen. *J. Cryst. Growth.* 1989, **98**, 504-510.
33. H. Cölfen, M. Antonietti. *Mesocrystals and Nonclassical Crystallization.* John Wiley and Sons Ltd., 2008 : s.n.
34. F. C. Meldrum, H. Cölfen. *Chem. Rev.* 2008, **108**, 4332-4432.
35. Wulff, G. Z. *Kristallogr.* 1901, **34**, 449-530.
36. Kossel, W. *Die Naturwissenschaften.* 1930, **18**, 901-910.
37. E. D. Williams, N. C. Bartelt. *Science.* 1991, **251**, 393-400.
38. W. K. Burton, N. Cabrera, F. C. Frank. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A.* 1951, **243**, 299-358.
39. Mullin, J. W. *Crystallization.* s.l. : Butterworth-Heinemann, 2001, 219-223.
40. H. H. Teng, P. M. Dove, J. J. De Yoreo. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2000, **64**, 2255-2266.
41. N. Kubota, J. W. Mullin. *J. Cryst. Growth.* 1995, **152**, 203-208.

-
42. Myerson, A. S. *Handbook of Industrial Crystallization*. s.l. : Butterworth-Heinemann, 2002, 81-82.
43. S. Blank, M. Arnoldi, S. Khoshnavaz, L. Treccani, M. Kuntz, K. Mann, G. Grathwohl, M. Fritz. *J. Microsc.* 2003, **212**, 280-291.
44. J. Rieger, T. Frechen, G. Cox, W. Heckmann, C. Schmidt, J. Thieme. *Faraday Discuss.* 2007, **136**, 265-277.
45. M. Faatz, F. Gröhn, G. Wegner. *Adv. Mater.* 2004, **16**, 996-1000.
46. Y. Levi-Kalisman, S. Raz, S. Weiner, L. Addadi, I. Sagi. *Adv. Funct. Mater.* 2002, **12**, 43-48.
47. Z. Zhang, D. Gao, H. Zhao, C. Xie, G. Guan, D. Wang, S.-H. Yu. *J. Phys. Chem. B.* 2006, **110**, 8613-8618.
48. E. Mugnaioli, I. Andrusenko, T. Schüler, N. Loges, R. E. Dinnebier, M. Panthöfer, W. Tremel, U. Kolb. *Angew. Chem. Int. Ed.* . 2012, **51**, 7041-7045.
49. F. Heberling, D. Bosbach, J.-D. Eckhardt, U. Fischer, J. Glowacky, M. Haist, U. Kramar, S. Loos, H. S. Müller, T. Neumann, C. Pust, T. Schäfer, J. Stelling, M. Ukrainczyk, V. Vinograd, M. Vucak, B. Winkler. *Appl. Geochem.* 2014, **45**, 158-190.
50. Marschner, H. *Science.* 1969, **165**, 1119-1121.
51. Shaikh, A. M. *J. Appl. Crystallogr.* 1990, **23**, 263-265.
52. A. Shahar, W. A. Bassett, H. K. Mao, I. M. Chou, W. Mao. *Am. Mineral.* 2005, **90**, 1835-1839.
53. Mullin, J. W. *Crystallization, 4th ed.* s.l. : Butterworth-Heinemann: Oxford, U.K., 2001.
54. L. Addadi, S. Raz, S. Weiner. *Adv. Mater.* . 2003, **15**, 959-970.
55. Y. Politi, T. Arad, E. Klein, S. Weiner, L. Addadi. *Science.* 2004, **306**, 1161-1164.
56. A. M. Belcher, X. H. Wu, R. J. Christensen, P. K. Hansma, G. D. Stucky, D. E. Morse. *Nature.* 1996, **381**, 56-58.
57. E. Beniash, J. Aizenberg, L. Addadi, S. Weiner. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 1997, **264**, 461-465.
58. G. L. Decker, J. B. Morrill, W. J. Lennarz. *Development.* 1987, **101**, 297-312.

59. Lippmann, F. *Sedimentary Carbonate Minerals*. s.l. : Springer-Verlag: New York, 1973.
60. K. Okazaki, S. Inoue. *Develop., Growth and Differ.* 1976, **18**, 413-434.
61. J. Aizenberg, L. Gretchen, S. Weiner, L. Addadi. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, **124**, 32-39.
62. J. Aizenberg, J. Hanson, M. Ilan, L. Leiserowitz, T. F. Koetzle, L. Addadi, S. Weiner. *FASEB J.* 1995, **9**, 262-268.
63. J. R. Young, S. A. Davis, P. R. Bown, S. Mann. *J. Struct. Biol.* . 1999, **126**, 195-215.
64. Currey, J. D. *Proc. R. Soc. Lond. B.* . 1977, **196**, 443-463.
65. Y. Oaki, A. Kotachi, M. Takashi, H. Imai. *Adv. Funct. Mater.* 2006, **16**, 1633-1639.
66. H. C. Schröder, A. Krasko, D. Brandt, M. Wiens, M. N. Tahir, W. Tremel, W. E. G. Müller. *Porifera Research: Biodiversity, Innovation and Sustainability*. 2007, 581-592.
67. J. N. Cha, K. Shimizu, Y. Zhou, S. C. Christianssen, B. F. Chmelka, G. D. Stucky, D. E. Morse. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999, **96**, 361-365.
68. H. C. Schröder, X. Wang, W. Tremel, H. Ushijima, W. E. G. Müller. *Nat. Prod. Rep.* 2008, **25**, 455-474.
69. L. Addadi, S. Weiner. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1985, **82**, 4110-4114.
70. J. R. Young, K. Henriksen. *Rev. Mineral. Geochem.* 2003, **54**, 189-215.
71. L. Addadi, D. Joester, F. Nudelman, S. Weiner. *Chem. Eur. J.* . 2006, **12**, 980-987.
72. J. W. Cahn, J. E. Hilliard. *J. Chem. Phys.* 1959, **31**, 688-699.
73. D. Gebauer, M. Kellermeier, J. D. Gale, L. Bergström, H. Cölfen. *Chem. Soc. Rev.* 2014, **43**, 2348-2371.
74. J. Garcia-Ojalvo, A. M. Lacasta, J. M. Sancho, R. Toral. *Europhys. Lett.* 1998, **42**, 125-130.
75. S. E. Wolf, J. Leiterer, M. Kappl, F. Emmerling, W. Tremel. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, **130**, 12342-12347.
76. Gower, L. B. *Chem. Rev.* 2008, **108**, 4565.
77. L. B. Gower, D. J. Odom. *J. Cryst. Growth.* 2000, **210**, 719-734.
78. D. Volkmer, M. Harms, L. Gower, A. Ziegler. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, **44**, 639-644.

-
79. A. Sugawara, T. Nishimura, Y. Yamamoto, H. Inoue, H. Nagasawa, T. Kato. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, **45**, 2876-2879.
80. M. J. Olszta, S. Gajjaraman, M. Kaufman, L. B. Gower. *Chem. Mater.* . 2004, **16**, 2355-2362.
81. S. Kumar, T. Ito, Y. Yanagihara, Y. Oaki, T. Nishimura, T. Kato. *CrystEngComm.* 2010, **12**, 2021-2024.
82. G. Falini, S. Albeck, S. Weiner, L. Addadi. *Science.* 1996, **271**, 67-69.
83. Falini, G. *Int. J. Inorg. Mater.* 2000, **2**, 455-461.
84. J. Aizenberg, D. A. Muller, J. L. Grazul, D. R. Hamann. *Science.* 2003, **299**, 1205-1208.
85. Y.-Y. Kim, N. B. J. Hetherington, E. H. Noel, R. Kröger, J. M. Charnock, H. K. Christenson, F. C. Meldrum. *Angew. Chem. Int. Ed.* . 2011, **50**, 12572-12577.
86. E. M. Pouget, P. H. H. Bomans, J. A. C. M. Goos, P. M. Frederik, G. de With, N. A. J. M. Sommerdijk. *Science.* 2009, **323**, 1455-1458.
87. E. Loste, R. J. Park, J. Warren, F. C. Meldrum. *Adv. Funct. Mater.* 2004, **14**, 1211-1220.
88. A. S. Schenk, E. J. Albarracin, Y.-Y. Kim, J. Ihli, F. C. Meldrum. *Chem. Commun.* 2014, **50**, 4729-4732.
89. A. Becker, W. Becker, J. C. Marxen, M. Epple. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 2003, **629**, 2305-2311.
90. J. Ihli, P. Bots, A. Kulak, L. G. Benning, F. C. Meldrum. *Adv. Funct. Mater.* 2013, **23**, 1965-1973.
91. H. He, E. J. Veneklaas, J. Kuo, H. Lambers. *Trends Plant Sci.* 2014, **19**, 166-174.
92. Cote, G. G. *Am. J. Bot.* 2009, **96**, 1245-1254.
93. A. M. A. Mazen, D. Zhang, V. R. Franceschi. *New Phytol.* 2003, **161**, 435-448.
94. M. Demarty, C. Morvan, M. Thellier. *Plant Cell Environ.* 1984, **7**, 441-448.
95. V. R. Franceschi, H. T. Horner. *Bot. Rev.* 1980, **46**, 361-427.
96. V. Tazzoli, M. C. Domeneghetti. *Am. Mineral.* 1980, **65**, 327-334.

97. Deganello, S. *Acta Crystallogr. B.* 1981, **37**, 826-829.
98. B. Bohner, G. Schusztter, O. Berkesi, D. Hoevath, A. Toth. *Chem. Commun.* 2014, **50**, 4289-4291.
99. J. A. Wesson, E. M. Worcester, J. H. Wiessner, N. S. Mandel, J. G. Kleinman. *Kidney Int.* 1998, **53**, 952-957.
100. F. Grases, A. Millan, A. Garcia-Raso. *J. Cryst. Growth.* 1988, **89**, 496-500.
101. J. Yu, H. Tang, B. Cheng, X. Zhao. *J. Solid State Chem.* 2004, **177**, 3368-3374.
102. A. Thomas, E. Rosseeva, O. Hochrein, W. Carrillo-Cabrera, P. Simon, P. Duchstein, D. Zahn, R. Kniep. *Chem. Eur. J.* 2012, **18**, 4000-4009.
103. S. R. Khan, S. A. Maslamani, F. Atmani, P. A. Glenton, F. J. Opalko, S. Thamilselvan, C. Hammett-Stabler. *Calcif. Tissue Int.* 2000, **66**, 90-96.
104. Y.-C. Chien, D. L. Masica, J. J. Gray, S. Nguyen, H. Vali, M. D. McKee. *J. Biol. Chem.* 2009, **284**, 23491-23501.
105. F. Natalio, T. P. Corrales, M. Panthöfer, D. Schollmeyer, I. Lieberwirth, W. E. G. Müller, M. Kappl, H.-J. Butt, W. Tremel. *Science.* 2013, **339**, 1298-1302.
106. H. N. Rutt, J. H. Nicola. *J. Phys. C: Solid state Phys.* 1974, **7**, 4522-4528.
107. M. J. Olszta, E. P. Douglas, L. B. Gower. *Calcif. Tissue Int.* 2003, **72**, 583-591.
108. X. Long, Y. Ma, K. R. Cho, D. Li, J. J. De Yoreo, L. Qi. *Cryst. Growth Des.* . 2013, **13**, 3856-3863.
109. ruff.info.
110. Millan, A. *Cryst. Growth Des.* 2001, **1**, 245-254.
111. M. Schmitt, J. Popp. *Chem. Unserer Zeit.* 2011, **45**, 14-23.
112. Shippey, T. A. *J. Mol. Struct.* 1980, **63**, 157-166.
113. H. G. M. Edwards, D. W. Farwell, R. Jenkins, M. R. D. Seaward. *J. Raman Spectrosc.* 1992, **23**, 185-189.
114. M. Hajir, R. Graf, W. Tremel. *Chem. Commun.* 2014, **50**, 6534-6536.

-
115. A. F. M. Leenaars, K. Keizer, A. J. Burggraaf. *J. Mater. Sci.* 1984, **19**, 1077-1088.
116. R. Kniep, S. Busch. *Angew. Chem.* . 1996, **108**, 2788-2790.
117. Y. Oaki, H. Imai. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, **44**, 6571-6575.
118. A.-W. Xu, W.-F. Dong, M. Antonietti, H. Cölfen. *Adv. Funct. Mater.* 2008, **18**, 1307-1313.
119. Navrotsky, A. *PNAS*. 2004, **101**, 12096-12101.
120. Y.-H. Tseng, C. Chevillard, Y. Dauphin, P. Guenoun. *Cryst. Eng. Comm.* . 2014, **16**, 561-569.
121. Studart, A. R. *Adv. Funct. Mater.* 2013, **23**, 4423-4436.
122. Mann, S. *Nat. Mater.* 2009, **8**, 781-792.
123. A. Walther, A. H. E. Müller. *Chem. Rev.* 2013, **113**, 5194-5261.
124. P. Dommersnes, Z. Pozynek, A. Mikkelsen, R. Castberg, K. Kjerstad, K. I. Hersvik, J. O. Fossum. *Nat. Commun.* . 2013, **4**, 1-8.
125. D. Hirsemann, S. Shylesh, R. A. De Souza, B. Diar-Bakerly, B. Biersack, D. N. Mueller, M. Martin, R. Schobert, J. Breu. *Angew. Chem.* 2012, **124**, 1376-1380.
126. J. Kwak, W. K. Bae, M. Zorn, H. Woo, H. Yoon, J. Lim, S. W. Kang, S. Weber, H.-J. Butt, R. Zentel, S. Lee, K. Char, C. Lee. *Adv. Mater.* 2009, **21**, 5022-5026.
127. A. Perro, S. Reculosa, S. Ravaine, E. Bourgeat-Lami, E. Duguet. *J. Mater. Chem.* . 2005, **15**, 3745-3760.
128. J. Ropponen, S. Nummelin, K. Rissanen. *Org. Lett.* 2004, **6**, 2495-2497.
129. V. Percec, M. R. Imam, T. K. Bera, V. S. K. Balagurusamy, M. Peterca, P. A. Heiney. *Angew. Chem. Int. Ed.* . 2005, **44**, 4739-4745.
130. Z. Nie, W. Li, M. Seo, S. Xu, E. Kumacheva. *J. Am. Chem. Soc.* 2006, **128**, 9408-9412.
131. R. Erhardt, M. F. Zhang, A. Böker, H. Zettl, C. Abetz, P. Frederik, G. Krausch, V. Abetz, A. H. E. Müller. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, **125**, 3260-3267.
132. Habas, S. E., et al. *Nat. Mater.* 2007, **6**, 692-697.

133. C. Fernandez-Lopez, C. Mateo-Mateo, R. A. Alvarez-Puebla, J. Perez-Juste, I. Pastoriza-Santos, L. M. Liz-Marzan. *Langmuir*. 2009, **25**, 13894-13899.
134. F. Wetz, K. Soulantica, A. Falqui, M. Respaud, E. Snoeck, B. Chaudret. *Angew. Chem.* 2007, **119**, 7209-7211.
135. H. Yu, M. Chen, P. M. Rice, S. X. Wang, R. White and S. Sun. *Nano Lett.* 2005, **5**, 379-382.
136. C. Xu, J. Xie, D. Ho, C. Wang, N. Kohler, E. Walsh, J. Morgan, Y. E. Chin, S. Sun. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008, **47**, 173-176.
137. T. D. Schladt, M. I. Shukoor, M. N. Tahir, F. Natalio, K. Schneider, I. Ament, J. Becker, F. Jochum, S. Weber, P. Theato, L. M. Schreiber, C. Sönnichsen, H.-C. Schröder, W. E. G. Müller and W. Tremel. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, **49**, 3976-3980.
138. I. Schick, S. Lorenz, D. Gehrig, A.-M. Schilman, H. Bauer, M. Panthöfer, K. Fischer, D. Strand, F. Laquai, W. Tremel. *J. Am. Chem. Soc.* . 2014, **136**, 2473-2483.
139. M. N. Tahir, F. Natalio, M. A. Cambaz, M. Panthöfer, R. Branscheid, U. Kolb, W. Tremel. *Nanoscale*. 2013, **5**, 9944-9949.
140. C. Pacholski, A. Kornowski, H. Weller. *Angew. Chem.* . 2004, **116**, 4878-4881.
141. F. R. Fan, Y. Ding, D.-Y. Liu, Z. Q. Tian and Z. L. Wang. *J. Am. Chem. Soc.* 2009, **131**, 12036-12037.
142. T. Mokari, E. Rothenberg, I. Popov, R. Costi, U. Banin. *Science*. 2004, **304**, 1787-1790.
143. N. Zhao, J. Vickery, G. Guerin, J. I. Park, M. A. Winnik, E. Kumacheva. *Angew. Chem. Int. Ed.* . 2011, **50**, 4606-4610.
144. B. Nakhjavan, M. N. Tahir, F. Natalio, H. Gao, K. Schneider, T. Schladt, I. Ament, R. Branscheid, S. Weber, U. Kolb, C. Sönnichsen, L. M. Schreiber, W. Tremel. *J. Mater. Chem.* 2011, **21**, 8605-8611.
145. D. Yoo, J. H. Lee, T.-H. Shin and J. Cheon. *Acc. Chem. Res.* 2011, **44**, 863-874.
146. Cozzoli, L. Carbone and P. D. *Nano Today*. 2010, **5**, 449-493.
147. T. D. Schladt, K. Schneider, H. Schild and W. Tremel. *Dalton Trans.* 2011, **40**, 6315-6343.

-
148. N. Glaser, D. J. Adams, A. Böker, G. Krausch. *Langmuir*. 2006, **22**, 5227-5229.
149. de Gennes, P.-G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1992, **31**, 842-845.
150. B. R. Heywood, S. Mann. *Adv. Mater.* 1994, **6**, 9-20.
151. M. Breulmann, H. Cölfen, H.-P. Hentze, M. Antonietti, D. Walsh, S. Mann. *Adv. Mater.* 1998, **10**, 237-241.
152. M. N. Tahir, M. Eberhardt, H. A. Therese, U. Kolb, P. Theato, W. E. G. Müller, H.-C. Schröder, W. Tremel. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, **45**, 4803-4809.
153. C. E. Fowler, D. Khushalani, S. Mann. *Chem. Commun.* 2001, 2028-2029.
154. D. D. Archibald, S. B. Qadri, B. P. Gaber. *Langmuir*. 1996, **12**, 538-546.
155. J. Küther, R. Seshadri, G. Nelles, W. Assenmacher, H.-J. Butt, W. Mader, W. Tremel. *Chem. Mater.* 1999, **11**, 1317-1325.
156. N. J. Halas, S. Lal, W.-S. Chang, S. Link, P. Nordlander. *Chem. Rev.* 2011, **111**, 3913-3961.
157. Mie, G. *Annalen der Physik*. 1908, **3**, 377-445.
158. Maier, S. A. *Plasmonics: Fundamentals and Applications*. Springer: 2007.
159. Dissertation Christina Lambertz, AK Prof. Sönnichsen. S. 11.
160. X. Zhang, Y. L. Chen, R.-S. Liu, D. P. Tsai. *Rep. Prog. Phys.* 2013, **76**, 1-41.
161. Kreibig, U. *Phys. Unserer Zeit*. 2008, **39**, 281-287.
162. K. L. Kelly, E. Coronado, L. L. Zhao, G. C. Schatz. *J. Phys. Chem. B*. 2003, **107**, 668-677.
163. C. Bohren, D. Huffman. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley & Sons: 1983.
164. Drude, P. *Ann. Phys.* 1900, **306**, 566-613.
165. K. M. Mayer, J. H. Hafner. *Chem. Rev.* 2011, **111**, 3828-3857.
166. P. K. Jain, K. S. Lee, I. H. El-Sayed, M. A. El-Sayed. *J. Phys. Chem. B*. 2006, **110**, 7238-7248.
167. S. Link, M. A. El-Sayed. *J. Phys. Chem. B*. 1999, **103**, 4212-4217.

168. T. Klar, M. Perner, S. Grosse, G. von Plessen, W. Spirkl, J. Feldmann. *Phys. Rev. Lett.* 1998, **80**, 4249-4252.
169. E. J. Heilweil, R. M. Hochstrasser. *J. Chem. Phys.* 1985, **82**, 4762-4770.
170. M. B. Mohamed, V. Volkov, S. Link, M. A. El-Sayed. *Chem. Phys. Lett.* . 2000, **317**, 517-523.
171. C. Sönnichsen, T. Franzl, T. Wilk, G. von Plessen, J. Feldmann, O. Wilson, P. Mulvaney. *Phys. Rev. Lett.* 2002, **88**, 077402-1.
172. E. Dulkeith, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann, G. von Plessen, D. I. Gittins, K. S. Mayya, F. Caruso. *Phys. Rev. B.* 2004, **70**, 205424-1.
173. N. J. Durr, T. Larson, D. K. Smith, B. A. Korgel, K. Sokolov, A. Ben-Yakar. *Nano Lett.* 2007, **7**, 941-945.
174. D. Boyer, P. Tamarat, A. Maali, B. Lounis, M. Orrit. *Science.* 2002, **297**, 1160-1163.
175. Q. Zhang, T. P. Chou, B. Russo, S. A. Jenekhe and G. Cao. *Angew. Chem.* 2008, **120**, 2436-2440.
176. G. G. Huang, C. T. Wang, H. T. Tang, Y. S. Huang, J. Yang. *Anal. Chem.* 2006, **78**, 2397-2404.
177. X. Tang, E. S. G. Tang, L. Li, J. Ding and J. Xue. *Chem. Mater.* 2010, **22**, 3383-3388.
178. Schick, I. *Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.* 2014.
179. T. D. Schladt, K. Koll, S. Prüfer, H. Bauer, F. Natalio, O. Dumele, R. Raidoo, S. Weber, U. Wolfrum, L.-M. Schreiber, M. P. Radsak, H. Schild and W. Tremel. *J. Mater. Chem.* 2012, **22**, 9253-9262.
180. Y. K. Peng, C.-W. Lai, C.-L. Liu, H.-C. Chen, Y.-H. Hsiao, W.-L. Liu, K.-C. Tang, Y. Chi, J.-K. Hsiao, K. E. Lim, H.-E. Liao, J.-J. Shyue and P.-T. Chou. *ACS Nano.* 2011, **5**, 4177-4187.
181. G. A. Sotirou, A. M. Hirt, P.-Y. Lozach, A. Teleki, F. Krumeich, S. E. Pratsinis. *Chem. Mater.* 2011, **23**, 1985-1992.
182. W. Stöber, A. Fink. *J. Colloid Interface Sci.* 1968, **26**, 62-69.

-
183. A. Guerro-Martinez, J. Perez-Juste, L. M. Liz-Marzan. *Adv. Mater.* 2010, **22**, 1182-1195.
184. S. Vaucher, M. Li, S. Mann. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2000, **39**, 1793-1796.
185. Y. Han, J. Jiang, S. S. Lee, J. Y. Ying. *Langmuir.* 2008, **24**, 5842-5848.
186. M. Zhang, B. L. Cushing, C. J. O'Connor. *Nanotechnology.* 2008, **19**, 085601-1.
187. B. Wu, S. Tang, M. Chen, N. Zheng. *Chem. Commun.* 2014, **50**, 174-176.
188. M. Susewind, A.-M. Schilmann, J. Heim, A. Henkel, T. Link, K. Fischer, D. Strand, U. Kolb, M. N. Tahir, J. Brieger, W. Tremel. *J. Mater. Chem. B.* 2015, **3**, 1813-1822.
189. S. Peng, Y. Lee, C. Wang, H. Yin, S. Dai, S. Sun. *Nano Res.* 2008, **1**, 229-234.
190. D.-S. Bae, K.-S. Han, J. H. Adair. *J. Mater. Chem.* 2002, **12**, 3117-3120.
191. L. M. Liz-Marzan, M. Giersig, P. Mulvaney. *Langmuir.* 1996, **12**, 4329-4335.
192. C. Graf, D. L. J. Vossen, A. Imhof, A. van Blaaderen. *Langmuir.* 2003, **19**, 6693-6700.
193. V. V. Hardikar, E. Matijevic. *J. Colloid Interface Sci.* 2000, **221**, 133-136.
194. S. Liu, M. Han. *Adv. Funct. Mater.* 2005, **15**, 961-967.
195. D. C. Lee, F. V. Mikulec, J. M. Pelaez, B. Koo, B. A. Korgel. *J. Phys. Chem. B.* 2006, **110**, 11160-11166.
196. T. Matsoukas, E. Gulari. *J. Colloid Interface Sci.* 1988, **124**, 252-261.
197. V. B. Kumar, K. Kumar, A. Gedanken, P. Paik. *J. Mater. Chem. B.* 2014, **2**, 3956-3964.
198. S. Liufu, H. Xiao, Y. Li. *Powder Technology.* 2004, **145**, 20-24.
199. Nagao, M. *The Journal of Physical Chemistry.* 1971, **75**, 3822-3828.
200. Schärrtl, W. *Light scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions.* s.l. : Springer, 2007.
201. A. Sanchez-Iglesias, I. Pastoriza-Santos, J. Perez-Juste, B. Rodriguez-Gonzalez, F. J. Garcia de Abajo, L. M. Liz-Marzan. *Adv. Mater.* 2006, **18**, 2529-2534.
202. M.-C. Daniel, D. Astruc. *Chem. Rev.* 2004, **104**, 293-346.
203. D. Lehner, H. Lindner, O. Glatter. *Langmuir.* 2000, **16**, 1689-1695.

204. M. M. Tirado, J. Garcia de la Torre. *J. Chem. Phys.* 2003, **119**, 9914-9920.
205. M. Dietzsch, M. Barz, T. Schüler, S. Klassen, M. Schreiber, M. Susewind, N. Loges, M. Lang, N. Hellmann, M. Fritz, K. Fischer, P. Theato, A. Kühnle, M. Schmidt, R. Zentel, W. Tremel. *Langmuir*. 2013, **29**, 3080-3088.
206. P. Mulvaney, L. M. Liz-Marzan, M. Giersig, T. Ung. *J. Mater. Chem.* 2000, **10**, 1259-1270.
207. V. Kane, P. Mulvaney. *Langmuir*. 1998, **14**, 3303-3311.
208. C. Rosman, J. Prasad, A. Neiser, A. Henkel, J. Edgar, C. Sönnichsen. *Nano Lett.* 2013, **13**, 3243-3247.
209. D. W. Brandl, N. A. Mirin, P. Nordlander. *J. Phys. Chem. B.* 2006, **110**, 12302-12310.
210. K. Ueno, S. Juodkazis, V. Mizeikis, K. Sasaki, H. Misawa. *Adv. Mater.* 2008, **20**, 26-30.
211. K. Imura, T. Nagahara, H. Okamoto. *J. Phys. Chem. B.* 2005, **109**, 13214-13220.
212. J. Park, A. Estrada, K. Sharp, K. Sang, J. A. Schwartz, D. K. Smith, C. Coleman, J. D. Payne, B. A. Korgel, A. K. Dunn, J. W. Tunnell. *Optics Express*. 2008, **16**, 1590-1599.
213. K. Vanheusden, C. H. Seager, W. L. Warren, D. R. Tallant, J. A. Voigt. *Appl. Phys. Lett.* 1996, **68**, 403-405.
214. Z. Fu, B. Yang, L. Li, W. Dong, C. Jia, W. Wu. *J. Phys. Condens. Matter.* 2003, **15**, 2867-2873.
215. S. A. Studenikin, N. Golego, M. Cocivera. *J. Appl. Phys.* 1998, **84**, 2287-2294.
216. L. Wu, Y. Wu, X. Oan, F. Kong. *Optical Materials*. 2006, **28**, 418-422.
217. A. El Hichou, M. Adsdou, J. Ebothe, M. Troyon. *Journal of Luminescence*. 2005, **113**, 183-190.
218. A. B. Djurisic, Y. H. Leung, K. H. Tam, L. Ding, W. K. Ge, H. Y. Chen, S. Gwo. *Appl. Phys. Lett.* 2006, **88**, 103-107.
219. W. M. Kwok, A. B. Djurisic, Y. H. Leung, W. K. Chan, D. L. Phillips. *Appl. Phys. Lett.* 2005, **87**, 93-108.

-
220. M. G. Vivas, T. Shih, T. Voss, E. Mazur, C. R. Mendonca. *Optics Express*. 2010, **18**, 9628-9633.
221. Klingshirn, C. *Phys. Stat. Sol. (b)*. 1975, **71**, 547-556.
222. A. V. Kachynski, A. N. Kuzmin, M. Nyk, I. Roy, P. N. Prasad. *J. Phys. Chem. C*. 2008, **112**, 10721-10724.
223. W. Shi, H. Zeng, Y. Sahoo, T. Y. Ohulchansky, Y. Ding, Z. L. Wang, M. Swihart, P. N. Prasad. *Nano Lett.* 2006, **6**, 875-881.
224. Y. Wei, R. Klajn, A. O. Pinchuk, B. A. Grzybowski. *Small*. 2008, **4**, 1635-1639.
225. C. Bauer, J.-P. Abid, D. Fermin, H. H. Girault. *J. Chem. Phys.* 2004, **120**, 9302-9315.
226. A. Pinchuk, U. Kreibig. *New Journal of Physics*. 2003, **5**, 151.1-151.15.
227. V. Puddu, C. C. Perry. *ACS Nano*. 2012, **6**, 6356-6363.
228. S. V. Patwardhan, F. S. Emami, R. J. Berry, S. E. Jones, R. R. Naik, O. Deschaume, H. Heinz, C. C. Perry. *J. Am. Chem. Soc.* 2012, **134**, 6244-6256.
229. J. R. Harris, R. W. Horne. *Micron*. 1994, **25**, 5-13.
230. J. R. Harris, W. Gebauer, J. Markl. *Micron*. 1995, **26**, 25-33.
231. Hopwood, D. *Histochemical Journal*. 1969, **1**, 323-360.
232. R. E. Buló, D. Donadio, A. Laio, F. Molnar, J. Rieger, M. Parrinello. *Macromolecules*. 2007, **40**, 3437-3442.
233. A. N. Kulak, M. Semsarilar, Y.-Y. Kim, J. Ihli, L. A. Fielding, O. Cespedes, S. P. Armes, F. C. Meldrum. *Chem. Sci.* 2014, **5**, 738-743.
234. H. Cölfen, M. Antonietti. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, **44**, 5576-5591.
235. L. Zhou, P. O'Brien. *J. Phys. Chem. Lett.* 2012, **3**, 620-628.
236. M. Kijima, Y. Oaki, H. Imai. *Chem. Eur. J.* . 2011, **17**, 2828-2832.
237. J. Seto, Y. Ma, S. A. Davis, F. Meldrum, A. Gourrier, Y.-Y. Kim, U. Schilde, M. Sztucki, M. Burghammer, S. Maltsev, C. Jäger, H. Cölfen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012, **109**, 3699-3704.

238. Busch, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* . 2004, **43**, 1428-1431.
239. S. Busch, H. Dolhaine, A. DuChesne, S. Heinz, O. Hochrein, F. Laeri, O. Podebrad, U. Vietze, T. Weiland, R. Kniep. *Eur. J. Inorg. Chem.* 1999, **10**, 1643-1653.
240. Blakemore, R. *Science.* 1975, **190**, 377-379.
241. G.-S. Park, D. Shindo, Y. Waseda, T. Sugimoto. *J. Colloid Interface Sci.* 1996, **177**, 198-207.
242. A. Dong, J. Chen, P. M. Vora, J. M. Kikkawa, C. B. Murray. *Nature.* 2010, **466**, 474-477.
243. A. Ahniyaz, Y. Sakamoto, L. Bergström. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007, **104**, 17570-17574.
244. D. Zhang, G. Li, F. Wang, J. C. Yu. *Cryst. Eng. Comm.* . 2010, **12**, 1759-1763.
245. M. Distaso, D. Segets, R. Wernet, R. Klupp Taylor, W. Peukert. *Nanoscale.* 2012, **4**, 864-873.
246. L. Lu, I. Randjelovic, R. Capek, N. Gaponik, J. Yang, H. Zhang, A. Eychmüller. *Chem. Mater.* 2005, **17**, 5731-5736.
247. S. Xiong, B. Xi, C. Wang, G. Zou, L. Fei, W. Wang, Y. Qian. *Chem. Eur. J.* 2007, **13**, 3076-3081.
248. Sun, S. *Adv. Mater.* 2006, **18**, 393-403.
249. M. Cao, T. Liu, S. Gao, G. Sun, X. Wu, C. Hu, Z. L. Wang. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, **44**, 4197-4201.
250. A. M. Kalsin, M. Fialkowski, M. Paszewski, S. K. Smoukov, K. J. M. Bishop, B. A. Crzybowski. *Science.* 2006, **312**, 420-424.
251. K. Liu, Z. Nie, N. Zhao, W. Li, M. Rubinstein, E. Kumacheva. *Science.* 2010, **329**, 197-200.
252. Z. Tang, Z. Zhang, Y. Wang, S. C. Glotzer, N. A. Kotov. *Science.* 2006, **314**, 274-278.
253. Sleytr, M. Sa. *J. Bacteriol.* 2000, **182**, 859-868.
254. U. Gasser, E. R. weeks, A. Schofield, P. N. Pusey, D. A. Weitz. *Science.* 2001, **292**, 258-262.

-
255. M. E. Leunissen, C. G. Christova, A.-P. Hynninen, C. P. Royall, A. I. Campbell, A. Imhof, M. Dijkstra, R. van Roij, A. van Blaaderen. *Nature*. 2005, **437**, 235-240.
256. Langmuir, I. *J. Chem. Phys.* 1938, **6**, 873-896.
257. E. Akyol, M. Öner. *J. Cryst. Growth*. 2007, **307**, 137-144.
258. R.-Q. Song, H. Cölfen, A.-W. Xu, J. Hartmann, M. Antonietti. *ACS Nano*. 2009, **3**, 1966-1978.
259. W. Zhu, C. Cai, J. Lin, L. Wang, L. Chen, Z. Zhuang. *Chem. Comm.* . 2012, **48**, 8544-8546.
260. A. J. Giuffre, L. M. Hamm, N. Han, J. J. De Yoreo, P. M. Dove. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013, **110**, 9261-9266.
261. N. Loges, K. Graf, L. Nasdala, W. Tremel. *Langmuir*. 2006, **22**, 3073-3080.
262. S. Raz, P. C. Hamilton, F. H. Wilt, S. Weiner, L. Addadi. *Adv. Funct. Mater.* 2003, **13**, 480-486.
263. J. Küther, R. Seshadri, W. Tremel. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, **37**, 3044-3047.
264. S. Mann, D. D. Archibald, J. M. Didymus, T. Douglas, B. R. Heywood, F. C. Meldrum, N. J. Reeves. *Science*. 1993, **261**, 1286-1292.
265. B. A. Grzybowski, B. Kowalczyk, I. Lagzi, D. Wang, K. V. Tretiakov, D. A. Walker. *Faraday Discuss.* 2012, **159**, 201-209.
266. B. Kowalczyk, K. J. M. Bishop, I. Lagzi, D. Wang, Y. Wei, S. Han, B. A. Grzybowski. *Nat. Mater.* 2012, **11**, 227-232.
267. F. P. Zamborini, J. F. Hicks, R. W. Murray. *J. Am. Chem. Soc.* 2000, **122**, 4514-4515.
268. A. C. Templeton, F. P. Zamborini, W. P. Wuelfing, R. W. Murray. *Langmuir*. 2000, **16**, 6682-6688.
269. J. Kherb, S. C. Flores, P. S. Cremer. *J. Phys. Chem. B*. 2012, **116**, 7389-7397.
270. R. Schweins, P. Lindner, K. Huber. *Macromolecules*. 2003, **36**, 9564-9573.
271. R. Tadmor, E. Hernandez-Zapata, N. Chen, P. Pincus, J. N. Israelachvili. *Macromolecules*. 2002, **35**, 2380-2388.

272. D. Wang, B. Tejerina, I. Lagzi, B. Kowalczyk, B. A. Grzybowski. *ACS Nano*. 2011, **5**, 530-536.
273. A. E. Nel, L. Mädler, D. Velegol, T. Xia, E. M. V. Hoek, P. Somasundaran, F. Klaessig, V. Castranova, M. Thompson. *Nat. Mater.* 2009, **8**, 543-557.
274. E. M. V. Hoek, G. K. Agarwal. *J. Colloid Interface Sci.* 2006, **298**, 50-58.
275. T. Hofmann, T. Baumann, T. Bundschuh, F. v.d. Kammer, A. Leis, D. Schmitt, T. Schäfer, J. Thieme, K.-U. Totsche, H. Zänker. *Grundwasser*. 2003, **4**, 203-212.
276. F. Molnar, J. Rieger. *Langmuir*. 2005, **21**, 786-789.
277. M. Olvera de la Cruz, L. Belloni, M. Delsanti, J. P. Dalbiez, O. Spalla, M. Drifford. *J. Chem. Phys.* 1995, **103**, 5781-5791.
278. E. Bonaccorso, M. Kappl, H.-J. Butt. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2008, **13**, 107-119.
279. M. C. Leopold, J. A. Black, E. F. Bowden. *Langmuir*. 2002, **18**, 978-980.
280. G. M. Dougherty, K. A. Rose, J. B.-H. Tok, S. S. Pannu, F. Y. S. Chuang, M. Y. Sha, G. Chakarova, S. G. Penn. *Electrophoresis*. 2008, **29**, 1131-1139.
281. S. K. Smoukov, K. J. M. Bishop, B. Kowalczyk, A. M. Kalsin, B. A. Grzybowski. *J. Am. Chem. Soc.* 2007, **129**, 15623-15630.
282. Israelachvili, J. N. *Intermolecular and Surface Forces*. Academic Press, New York, 1991 : s.n.
283. K. V. Tretiakov, K. J. M. Bishop, B. Kowalczyk, A. Jaiswal, M. A. Poggi, B. A. Grzybowski. *J. Phys. Chem. A*. 2009, **113**, 3799-3803.
284. B. R. Heywood, S. Mann. *Adv. Mater.* . 1994, **6**, 9-19.
285. S. Rajam, B. R. Heywood, J. B. A. Walker, S. Mann, R. J. Davey, J. D. Birchall. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1991, **87**, 727-734.
286. R. Zhang, P.-G. Yin, N. Wang, L. Guo. *Solid State Sci.* 2009, **11**, 865-869.
287. J. M. Calleja, M. Cardona. *Phys. Rev. B*. 1977, **16**, 3753-3761.
288. T. C. Damen, S. P. S. Porto, B. Tell. *Phys. Rev.* 1966, **142**, 570-574.

-
289. C. E. Talley, J. B. Jackson, C. Oubre, N. K. Grady, C. W. Hollars, S. M. Lane, T. R. Huser, P. Nordlander, N. J. Halas. *Nano Lett.* 2005, **5**, 1569-1574.
290. C. J. Orendorff, A. Gole, T. K. Sau, C. J. Murphy. *Anal. Chem.* 2005, **77**, 3261-3266.
291. Y. Liu, W. Yuan, Y. Shi, X. Chen, Y. Wang, H. Chen, H. Li. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, **53**, 4127-4131.
292. Schreiber, M. *Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.* 2014.
293. B. Guillemet, M. Faatz, F. Gröhn, G. Wagner, Y. Gnanou. *Langmuir.* 2006, **22**, 1875-1879.
294. S. E. Wolf, N. Loges, B. Mathiasch, M. Panthöfer, I. Mey, A. Janshoff, W. Tremel. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, **46**, 5618-5623.
295. R.-Q. Song, H. Cölfen. *Adv. Mater.* 2010, **22**, 1301-1330.
296. A. N. Kulak, P. Iddon, Y. Li, S. P. Armes, H. Cölfen, O. Paris, R. M. Wilson, F. C. Meldrum. *J. Am. Chem. Soc.* 2007, **129**, 3729-3736.
297. J. Küther, R. Seshadri, W. Knoll, W. Tremel. *J. Mater. Chem.* 1998, **8**, 641-650.
298. D. A. Tomalia, A. M. Naylor, W. A. Goddard. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1990, **29**, 138-175.
299. S. Mann, J. M. Didymus, N. P. Sanderson, B. R. Heywood, E. J. A. Samper. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1990, **86**, 1873-1880.
300. Z. Mao, J. Huang. *J. Solid State Chem.* 2007, **180**, 453-460.
301. F. C. Meldrum, S. T. Hyde. *J. Cryst. Growth.* 2001, **231**, 544-558.
302. E. N. Caspi, B. Pokroy, P. L. Lee, J. P. Quintana, E. Zolotoyabko. *Acta Crystallogr. B.* 2005, **61**, 129-132.
303. G. Behrens, L. T. Kuhn, R. Ubig, A. H. Heuer. *Spectroscopy Letters.* 1995, **28**, 983-995.
304. K. Imura, H. Okamoto, M. K. Hossain, M. Kitajima. *Nano Lett.* 2006, **6**, 2173-2176.
305. P. K. Jain, I. H. El-Sayed, M. A. El-Sayed. *nanotoday.* 2007, **2**, 18-29.
306. K. Sokolov, M. Follen, J. Aaron, I. Pavlova, A. Malpica, R. Lotan, R. Richards-Kortum. *Cancer Res.* 2003, **63**, 1999-2004.

307. S.-H. Yu, H. Cölfen, M. Antonietti. *J. Phys. Chem. B.* 2003, **107**, 7396-7405.

308. K. Onuma, A. Oyane, T. Kokubo, G. Treboux, N. Kanzaki, A. Ito. *J. Phys. Chem. B.* 2000, **104**, 11950-11956.

A4 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Nukleations- und Wachstumsphase nach dem LaMer-Modell (1950).....	2
Abb. 2 Abhängigkeit der Keimbildungsarbeit ΔG vom Keimradius r	4
Abb. 3 Verschiedene Entwicklungsstadien des Seeigels <i>Paracentrotus lividus</i>	12
Abb. 4 Darstellung des voll entwickelten <i>Pluteus Stadiums</i> von <i>Paracentrotus lividus</i> im trigonalen Kristallsystem von Calcit mit umgebendem Rhomboeder.....	12
Abb. 5 (a) SEM-Aufnahme der Kalkalge <i>Emiliana huxleyi</i> und (b) der Kalkalge <i>Discosphaera tubifera</i>	13
Abb. 6 (a) Demosponge <i>Suberites domuncula</i> mit Einsiedlerkrebs, (b) SEM-Aufnahme der Tylostylen (<i>Spiculae</i>) mit einem runden und einem spitzen Ende, (c) Axialkanal (ac) und (d) Axialfilament, übernommen aus (68).....	14
Abb. 7 Mechanismus der katalytischen Hydrolyse eines Si-Alkoxids mittels der beiden Aminosäuren Ser (aa138) und His (aa277) des Enzyms Silicatein (67).....	15
Abb. 8 Phasendiagramm eines binären Systems mit einer unteren kritischen Lösungstemperatur (LCST).....	16
Abb. 9 (a) U-Rohr/Membran-synthese von Calciumcarbonat durch Doppeldiffusion, (b) Ammonium-carbonat-Diffusionsmethode.....	22
Abb. 10 Kristallstrukturen von Whewellit (COM) (97) und Weddellit (COD) (96).....	23
Abb. 11 (a) Zwei U-Rohrhälften mit einer eingespannten Membran in der Mitte wie im Experiment verwendet.....	26
Abb. 12 (a-b) SEM-Aufnahmen der 9 μm langen Calcit-Nanostäbchen.....	28
Abb. 13 μ -Raman-Spektrum der Calcit-Nanostäbchen.....	29
Abb. 14 (a) TEM-Aufnahme des Endes eines Stäbchens; (b) SEM-Aufnahme eines Calcit-Stäbchens.....	30
Abb. 15 (a-b) Lichtmikroskopische Aufnahmen beider PC-TE-Membranseiten der CaOx-Kristallisation (c) Poreninhalt nach Auflösen der Membran; (d) Polymorphbestimmung mittels μ -Raman.....	31
Abb. 16 (a-b) SEM-Aufnahmen der CaOx-Mikrokristalle; (d) nach dem FIB-Schnitt.....	33
Abb. 17 SEM-Aufnahmen der COM-Referenzkristalle ohne PAA.....	34
Abb. 18 (a) SEM-Aufnahme von CaOx-Partikelaggregaten mit Glu-Silicatein- α (d) Western-Blot mit Fluoreszenzfärbung.....	35
Abb. 19 Übersicht über die Ergebnisse der μ -Raman-Spektroskopie für CaOx/PAA (a), CaOx/Silicatein (b).....	36

Abb. 20 Lasermikroskopische Aufnahmen beider Membranseiten direkt nach der Kristallisation von CaCO_3 (10 mM) mit Cys-Silicatein- α	38
Abb. 21 SEM-Aufnahmen der anisotropen Calcit/Silicatein-Kompositkristalle.....	39
Abb. 22 (a) SEM-Übersichtsaufnahme eines Calcit/Silicatein-Kompositkristalls, (b-d) Selbstorganisationsprinzip der nanostrukturierten Kompositkristalle.....	40
Abb. 23 (a) μ -Raman-Spektrum des auf der SEM-Aufnahme in der oberen Ecke abgebildeten CaCO_3 /Silicatein-Kompositkristalls; (b) Diffraktogramm mit den Reflexen zugeordneten Miller'schen Indizes.....	41
Abb. 24 Western Blot der aufgelösten Calcit-Kristalle in verschiedenen Verdünnungen.....	41
Abb. 25 SEM-Serie der auf der Membran heterogen abgeschiedenen Referenzcalcite.....	42
Abb. 26 (a) Rotfärbung von Gläsern mit Gold-Nanopartikeln; (b) Wechselwirkung von elektromagnetischem Feld mit Oberflächenplasmonen.....	45
Abb. 27 Plasmonen-Polaritonen Dämpfungsmechanismen.....	48
Abb. 28 (a) Möglichkeiten der Relaxation eines angeregten Elektrons und eines Loches; (b) Vergleich der Linienbreiten der mit einem Dunkelfeldmikroskop aufgenommenen Streuspektren.....	48
Abb. 29 Darstellung der elektronischen Niveaus vor (links) und nach (rechts) der Angleichung der beiden Domänen.....	50
Abb. 30 Syntheseprotokoll der Au@ZnO@SiO_2 -Nanostäbchen.....	58
Abb. 31 (a) Au@ZnO@SiO_2 -Nanostäbchen mit 1-2 nm und (b und c) 2-3nm dicker Silica-Hülle.....	59
Abb. 32 TEM Aufnahme der mittels reverser Mikroemulsion synthetisierten Au@ZnO@SiO_2 Nanostäbchen mit freier Au-Domäne bei $\text{pH} = 10.9$	61
Abb. 33 DLS-Größenbestimmung des reversen Mikroemulsionssystems Igepal CO-520/Cyclohexan.....	62
Abb. 34 Vermutete Wechselwirkung der Igepal CO-520 Mizellen mit den Au@ZnO Heterodimeren.....	63
Abb. 35 ATR-FT-IR Spektren der Au@ZnO Partikel vor (schwarz) und nach der Silica-Ummantelung (rot).....	63
Abb. 36 (a) UV-Vis Spektren der Au@ZnO@SiO_2 - Nanostäbchen und derer Komponenten; (b) deutliche Intensitätszunahme der Photolumineszenz nach der Silica-Funktionalisierung.....	64
Abb. 37 (a) Au@ZnO@SiO_2 -Lösung in Millipore Wasser ($c = 0.2 \text{ gL}^{-1}$, $T = 293 \text{ K}$, $\eta = 1.005 \text{ cP}$), (b) Amplitudenkorrelationsfunktionen mit biexponentiellen Fitfunktionen (Linien), (c) Winkelabhängigkeit des Selbstdiffusionskoeffizienten zeigt relativ monodisperses Verhalten.....	66

Abb. 38 Aggregationsverhalten der mit 11-MUA in situ funktionalisierten Au@ZnO@SiO ₂ -Nanostäbchen in EtOH (schwarz und rot), dazu Vergleich der Selbstaggregation in CHCl ₃ (blau).....	67
Abb.39 (a) LB-Trog Messung der Au@ZnO@SiO ₂ -Nanostäbchen an einer Chloroform/Wasser Grenzfläche; (b) Modell einer Monolage der amphiphilen Januspartikel.....	68
Abb. 40 (a) Vier representative Dunkelfeld-mikroskopische Einzelmolekülstreuenspektren; (b) DFM-Aufnahme der untersuchten Partikeltrimere.....	69
Abb. 41 Zwei-Photonen induzierte Emission der Au@ZnO@SiO ₂ -Nanopartikelaggregate...70	
Abb. 42 (a) UV-Vis-Spektren der Farbstoffadsorption von FITC und RITC an die Silicahülle, (b) Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme.....	71
Abb. 43 (a) Syntheseroute der verweigten Au@Fe _x O _y -„nano-flowers“ ; (b) Au@Fe ₃ O ₄72	
Abb. 44 (a) Au@Fe _x O _y -Heterodimere mit blütenartiger Morphologie und (c) Au@Fe ₃ O ₄ -Sphäroide.....	73
Abb. 45 Ergebnisse der dynamischen Lichtstreuung für die sphäroiden monodispersen Au@Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ Heterostrukturen.....	75
Abb. 46 (a) UV-Vis-Spektren der Plasmonenresonanzen der 4 nm Au-Saatkeime im Vergleich mit den sphäroiden und verzweigten Januspartikeln (JP).....	76
Abb. 47 (a,b) Die TEM-Aufnahmen zeigen lineare Aggregate des mit Uranylacetat angefärbten Cys-Silicatein- α , (c,d) immobilisiertes Protein auf den Silica-Schalen der sphäroiden Au@Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ Januspartikel.....	77
Abb. 48 Log-Lin Auftragung der bimodalen Autokorrelationsfunktion für den Tris-Puffer und für das monomere Protein bei einem Streuwinkel von $\theta = 25^\circ$	78
Abb. 49 (a,b) Nachweis der Wechselwirkung AA ₂₀ -co-AMPS ₈₀ -funktionalisierter Au@Fe ₃ O ₄ -Januspartikel mit in situ Ca ²⁺ -Ionen-Titration mittels dynamischer Lichtstreuung.....	79
Abb. 50 Die DLVO-Theorie beschreibt die Summe der attraktiven VdW-Kräfte, Kräfte durch reduzierten osmotischen Druck zwischen zwei Kolloiden (depletion-force, ebenfalls attraktiv) und repulsiven elektrostatischen Kräften.....	85
Abb. 51 (a-b) Lichtmikroskopische Aufnahmen der CaCO ₃ -Kristallisation zeigen den inhibitorischen Effekt der 11-MUA-JP ; (c-d) Fluoreszenzmikroskop-Aufnahmen.....	89
Abb. 52 (a-b) SEM-Aufnahmen eines CaCO ₃ -Rhomboiders mit adsorbierten Nanopartikeln auf der {104}-Flächenschar.....	90
Abb. 53 SEM-Aufnahmen der wenigen größeren Calcit-Kristalle mit nach oben zeigender potentieller (1-10) Fläche.....	91
Abb. 54 AFM-Höhen- (a) und Phasen- (b) Abbildung der Calcit-Oberfläche im AM-Modus.....	92

- Abb. 55** (a) SEM-Aufnahme eines unter einer Eikosanonsäure-Monolage von der $\{11\bar{0}\}$ -Fläche aus gewachsenen Calcits (b) molekularer Einbau von Carboxylaten in die $(11\bar{0})$ -Fläche von Calcit.....93
- Abb. 56** μ -Raman-Spektrum der in Abb.53 gezeigten Calcit-Kompositkristalle.....95
- Abb. 57** SEM-Kippserie eines Calcit-rhomboeders mit oberflächlich adsorbierten 11-MUA-funktionalisierten $\text{Au}@Fe_xO_y@SiO_2$ -, „Nanoflowers“97
- Abb. 58** SEM-Aufnahme des Calcit-Rhomboeders mit mutmaßlicher $[1\bar{2}0]$ -Richtung (a-Achse).....98
- Abb. 59** (a) FIB-Cut SEM-Aufnahme des in Abb.58 gezeigten Calcits mit Pt-Schicht zur Fixierung.....99
- Abb. 60** TEM-Aufnahme der in der flüssig-amorphen Calciumcarbonat-Phase eingebetteten 11-MUA funktionalisierten $\text{Au}@Fe_xO_y@SiO_2$ -, „nano-flowers“99
- Abb. 61** (a-c) Hochaufgelöste konfokale Fluoreszenz-mikroskopische Aufnahmen eines Calcit-Rhomboeders mit adsorbierten FITC-markierten $\text{Au}@Fe_3O_4@SiO_2$ -Januspartikeln ohne Filter; (d-e) dazugehörige SEM-Aufnahmen und (f) SEM-EDX Spektrum mit einer schwachen Fe-L α -Linie (0.7 keV).....100
- Abb. 62** (b-c) Einfluss der Polymer-funktionalisierten $\text{Au}@Fe_3O_4$ -Heterodimere auf die Morphologie der Calcite; (d-e) zum Vergleich die Carboxylat-funktionalisierten $\text{Au}@Fe_3O_4@SiO_2$ Nanopartikel.....102
- Abb. 63** Übersichts- und Detail-SEM-Aufnahmen jeweils von links nach rechts in einer Reihe der bei einer Konzentration an Au-Kolloiden von $c = 0.05$ g/L (a-c), 0.1 g/L (d-f) und 0.2 g/L (g-i) entstandenen Calcite mittels der ADM-Methode, $c(\text{Ca}^{2+}) = 5$ mM.....104
- Abb. 64** (a) In $[001]$ -Richtung elongierte Calcit-Kristalle, $c(\text{Au}) = 0.1$ g/L, (b) Malonat-inhibierter Calcit-Kristall mit gleicher Orientierung, modifiziert übernommen nach (299)...105
- Abb. 65** Visualisierte Elementarzelle von Calcit mit dem Programm Diamond nach den Strukturdaten von Caspi et al. (302) mit eingezeichneter $(1-10)$ (a) und (011) -Fläche (b), die durch α - ω -Dicarboxylate stabilisiert werden (34).....106
- Abb. 66** (a) μ -Raman-Spektren eines Calcit-Referenzkristalls und der Au/CaCO_3 -Kompositkristalle mit 0.05 und 0.1 g/L an zugesetzten Au-Kolloiden; (b) SEM-EDX der Kugeloberfläche eines Kompositkristalls; (c,d) konfokale Fluoreszenzmikroskop-Aufnahme.....107
- Abb. 67** (a,b) HR-TEM-Aufnahme einer dünnen Scheibe aus den Calcit-Kugeln mit in das Kristallgitter epitaktisch eingebauten 4 nm Au-Nanopartikeln und Beugungsbild (Inlet in b), (c) FIB-Cut der Calcit-Kugel aus (d) mit sichtbaren Hohlstellen im Innern des Kristalls.....108

Curriculum Vitae



PERSONAL INFORMATION

Nationality: German

Date of birth: 30 December 1984

Marital Status: Married, 1 child

EMPLOYMENT HISTORY

- 01/2012 – today Research associate, Johannes Gutenberg-University (JGU) Mainz;
Schooling of students in the practical course and personal education of
two trainees
- 05/2011 – 11/2011 Diploma thesis, JGU Mainz
- 08/2008 – 09/2008 Scientific assistant at the Institute of Inorganic and Analytical Chemistry
JGU Mainz

EDUCATION

- 01/2012 – 06/2015 Doctoral studies, JGU Mainz; Topics: Polymer synthesis, nanoparticle synthesis, DLS, GPC, TEM, SPR; Title of doctoral thesis: “Molekular gesteuerte Aggregation von Nano-Kompositkristallen”
- 10/2004 – 12/2011 Study of chemistry (diploma), JGU Mainz;
Elective course: Macromolecular Chemistry;
Degree: German diploma
Title of diploma thesis: “Synthesis of polyelectrolytes and their use as additives for the crystallization of calcium carbonate”
- 03/2004 University admission at Wilhelm-Hofmann high school, St. Goarshausen