

Institut für Chemie – Supramolekulare Chemie

Grenzflächen-kontrollierte Mineralisation von Calciumphosphat

Zur Erlangung des akademischen Grades

„doctor rerum naturalium“

(Dr. rer. nat.)

in der wissenschaftlichen Disziplin „Colloid and Interface Science“

eingereicht an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Potsdam



von

Doreen Hentrich

geboren am 22.04.1986 in Berlin

Potsdam, den 1.03.2017

Online veröffentlicht auf dem
Publikationsserver der Universität Potsdam:
URN urn:nbn:de:kobv:517-opus4-398236
<http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:kobv:517-opus4-398236>

1. Gutachter: Prof. Andreas Taubert
2. Gutachter: Prof. Gerald Brezesinski
3. Gutachter: Prof. Helmut Cölfen

Inhaltsverzeichnis

I. Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung und Motivation.....	7
2. Theoretische Grundlagen	11
2.1 Biomineralisation.....	11
2.2 Calciumphosphat	12
2.2.1 Knochen	13
2.2.2 Zähne	15
2.3 Klassische und nicht-klassische Kristallisation	16
2.3.1 Klassische Kristallisation	16
2.3.2 Nicht-klassische Kristallisation	20
2.4 Methoden	22
2.4.1 Langmuir Monoschichten von Amphiphilen	22
2.4.2 Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS).....	24
2.4.3 Rasterkraftmikroskopie (AFM)	26
2.4.4 Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS).....	27
2.4.5 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)	30
2.4.6 Elektronenmikroskopie	31
3. Grenzflächen-kontrollierte Mineralisation von CP durch Cholesterylhemisuccinat	35
3.1 Ergebnisse.....	35
3.1.1 Phasenverhalten bei verschiedenen Temperaturen	35
3.1.2 Phasenverhalten bei verschiedenen pH-Werten	37
3.1.3 Phasenverhalten auf Subphasen verschiedener Calciumkonzentrationen	38
3.1.4 Dynamik des Films (Filmstabilität).....	40
3.1.5. Mineralisation von Calciumphosphat.....	41

3.2 Diskussion	52
3.2.1 Temperatureinfluss auf das Phasenverhalten.....	52
3.2.2 Einfluss des pH-Wertes auf das Phasenverhalten.....	57
3.2.3 Einfluss der Calciumkonzentration auf das Phasenverhalten	59
3.2.4 Untersuchung der Filmstabilität.....	62
3.2.5 Mineralisation von Calciumphosphat.....	64
4. Grenzflächen-kontrollierte Mineralisation von CP durch ein dendritisches Amphiphil	69
4.1 Ergebnisse.....	69
4.1.1 Charakterisierung des Phasenverhaltens an der Wasser/Luft-Grenzfläche69	
4.1.2. Mineralisation von Calciumphosphat.....	75
4.2 Diskussion	86
4.2.1 Temperatureinfluss auf das Phasenverhalten.....	86
4.2.2 Einfluss des pH-Wertes auf das Phasenverhalten.....	88
4.2.3 Einfluss der Calciumkonzentration auf das Phasenverhalten	89
4.2.4 Untersuchung der Filmstabilität.....	91
4.2.5 Mineralisation von Calciumphosphat.....	92
5. Vergleich der beiden Amphiphile.....	97
5.1 Unterschiede im Phasenverhalten	97
5.2 Unterschiede im Mineralisationsverhalten	101
6. Mineralisation in Bulklösung.....	103
6.1 Nitriolotriessigsäure als Mineralisationsadditiv	103
6.2 Ethylendiamintetraessigsäure als Mineralisationsadditiv.....	114
6.3 Diskussion der Mineralisation in Bulklösung.....	123
7. Zusammenfassung und Ausblick	133
8. Experimentalteil	135
8.1. Verwendete Chemikalien	135

8.2	Verwendete Tröge	136
8.3	Verwendete Amphiphile.....	137
8.3.1	CHOL-HEM	137
8.3.2	A-CHOL.....	138
8.4	Charakterisierung des Phasenverhaltens der beiden Amphiphile	138
8.5	Mineralisation von Calciumphosphat an der Grenzfläche	139
8.6	Mineralisation von Calciumphosphat in Bulklösung	140
8.6.1	Analytik NTA und EDTA	141
8.6.2	Mineralisation von Calciumphosphat.....	141
8.7	Verwendete Analysemethoden.....	143
9.	Anhang.....	149
10.	Literaturverzeichnis.....	153
II.	Veröffentlichungen.....	159
III.	Danksagung	161
IV.	Selbstständigkeitserklärung	163

I. Abkürzungsverzeichnis

A-CHOL	dendritisches Cholesterol-basiertes Amphiphil
ACP	amorphes Calciumphosphat
AFM	Rasterkraftmikroskopie (engl. atomic force microscopy)
ATR	abgeschwächte Totalreflexion (engl. attenuated total reflection)
BAM	Brewsterwinkelmikroskopie (engl. brewster angle microscopy)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	Calciumnitrat tetrahydrat
CDHA	Calcium-defizitäres Hydroxylapatit
CHOL-HEM	Cholesterylhemisuccinat
CP	Calciumphosphat
d-Abstände	Netzebenenabstände
DCPA	Dicalciumphosphat-Anhydrat
DCPD	Dicalciumphosphat-Dihydrat, Brushit
DPPA	Dipalmitoylphosphortidsäure
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholin
EDTA	Ethylendiaminotetraessigsäure natriumsalzdihydrat
EDXS	energie-dispersive Röntgenspektroskopie (engl. energy dispersive X-ray spectroscopy)
EELS	Elektronenenergieverlustspektroskopie (engl. electron energy loss spectroscopy)
ESCA	Elektronenspektroskopie zur chemischen Analyse (engl. electron spectroscopy for chemical analysis)
FT	Fouriertransformation
G	gasanalog
GIXD	Röntgendiffraktometrie mit streifenden Einfall (engl. grazing incidence X-ray diffraction)
HAP	Hydroxylapatit
HCl	Salzsäure
H_2O	Wasser
HRTEM	hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (engl. high resolution transmission electron microscopy)

ICCD	international centre for diffraction data
ICSD	inorganic crystal structure database
IR	Infrarotspektroskopie
IRRAS	Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie
LE	flüssig-expandiert (engl. liquid expanded)
LC	flüssig-kondensiert (engl. liquid condensed)
MCPA	Monocalciumphosphat-Anhydrat
MCPM	Monocalciumphosphat-Monohydrat
NTA	Nitriloessigsäuretrinatriummonohydrat
NaOH	Natriumhydroxid
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	Diammoniumhydrogenphosphat
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie (engl. nuclear magnetic resonance spectroscopy)
OCP	Octacalciumphosphat
PDMAEMA	Poly[2-(dimethylamino)ethylmethacrylat]
PEO- <i>b</i> -PLE	Poly(ethylenoxid)- <i>b</i> -poly(L-lysin)
PEO- <i>b</i> -PLK	Poly(ethylenoxid)- <i>b</i> -poly(L-glutamat)
SAED	Elektronenbeugung (engl. selected area electron diffraction)
SEM	Rasterelektronenmikroskopie (engl. scanning electron microscopy)
SiO ₂	Siliciumdioxid
STEM	Rastertransmissionselektronenmikroskopie (engl. scanning transmission electron microscopy)
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TCP	Tricalciumphosphat
TTCP	Tetracalciumphosphat
VSFG Spektroskopie	Summenfrequenz Spektroskopie (engl. vibrational sum frequency generation spectroscopy)
XPS	Röntgenphotoelektronenspektroskopie (engl. X-ray photoelectron spectroscopy)
XRD	Röntgenpulverdiffraktometrie (engl. X-ray powder diffraction)

1. Einleitung und Motivation

Das Themengebiet der Biomineralisation beschäftigt sich mit der Bildung meist anorganischer Materialien wie beispielsweise Calciumcarbonat, Calciumphosphat (CP) oder Siliciumdioxid in lebenden Organismen. Die Bildung solcher Mineralien erfolgt dabei in Anwesenheit einer organischen Matrix, die das Templat für die Mineralisation liefert. Viele Organismen in der Natur sind in der Lage durch den Einsatz komplizierter, molekularer Erkennungsmechanismen komplexe Hybridmaterialien mit den verschiedensten mechanischen und optischen Eigenschaften zu synthetisieren. Zudem kann die Natur die Struktur, die Größe, die Form, die Morphologie und die supramolekulare Organisation aller Bausteine des Komposits durch die Verwendung unterschiedlicher Mineralphasen und organischer Matrices beeinflussen.^[1-5]

Obwohl bisher einige biologische Strategien für die Bildung von Biomaterialien erforscht sind, ist die Übertragung dieser Prinzipien ins Labor immer noch eine Herausforderung. Das gilt insbesondere für Grenzflächen-kontrollierte Prozesse.^[6-10] Die Entschlüsselung dieser Prinzipien würde es möglich machen, Funktionsmaterialien mit überragenden Eigenschaften zu synthetisieren und den erforderlichen Ansprüchen anzupassen. Aufgrund dessen wurde speziell in den letzten Jahrzehnten vermehrt auf diesem Gebiet geforscht.

Ein weiterer Grund für das steigende Interesse der Wissenschaftler ist die steigende Lebenserwartung der Bevölkerung. Die durchschnittliche Lebenserwartung in Deutschland beträgt für Frauen mittlerweile rund 83 Jahre und für Männer etwa 78 Jahre.^[11] Der menschliche Körper ist jedoch nicht für ein solch langes Leben gerüstet. Das wird zum Beispiel am Verschleiß der Knochen und Zähne und durch die vermehrte Ausbildung von Krankheiten deutlich. Bei diesen Krankheiten handelt es sich beispielweise um Osteoporose, Arteriosklerose, Steinbildung in Organen wie beispielweise Nierensteine, aber auch vermeidlich harmlosere Krankheiten wie Karies und Zahnstein.^[12]

Die Gemeinsamkeit der eben genannten Beispiele liegt darin, dass ihre Bildung und Degradierung die Kristallisation und Auflösung der jeweiligen Kristallphase beinhaltet. Dabei handelt es sich bei diesen Beispielen um die Kristallisation von CP und anderen Calciummineralien. Das bessere Verständnis der Keimbildung, des Kristallwachstums und der

Auflösung könnte bei der Herstellung von Implantaten wie Hüftimplantaten und Zahnimplantaten und bei der Behandlung von Krankheiten wie Arteriosklerose helfen.

Neben CP bildet Calciumcarbonat eines der wichtigsten Biomineralien, welches bereits mehrfach untersucht wurde.^[6,13–21] Die Mineralisation von CP wurde bisher überwiegend in Bulklösung untersucht.^[22–30] Da jedoch in der Natur Mineralisationsprozesse überwiegend in Gelphasen oder an der Grenzfläche stattfinden^[31,32], liegt das Augenmerk dieser Arbeit in der Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche.

Dabei bilden amphiphile Monolagen gute Modellsysteme um die Keimbildung und das Kristallwachstum an der Wasser/Luft-Grenzfläche zu beobachten und zu verstehen. Dafür wurden bisher Amphiphile mit einem geringen Molekulargewicht und amphiphile Blockcopolymeren verwendet um verschiedene Grenzflächenstrukturen zu generieren und die Effekte auf die Mineralisation von Calciumcarbonat^[33–42] und CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche zu untersuchen.^[43–50]

Die Studien bezüglich der Grenzflächen-kontrollierten Mineralisation von CP sind recht begrenzt. Einige der Publikationen zeigen abhängig von der Grenzflächenchemie und den spezifischen Mineralisationsbedingungen eine beeindruckende Vielfalt der mineralisierten Calciumphosphate.^[8,22,43,44,46–48,51]

Casse et al. verwendeten eine Monolage bestehend aus Poly(*n*-butylacrylat)-*b*-poly(acrylsäure) als Templat für die Mineralisation von CP und beobachteten, dass die Mineralisation am effizientesten bei hohen pH-Werten verlief. Bei hohen pH-Werten ist das Polymer deprotoniert und die Monolage dementsprechend hoch geladen.^[43] Das deutete an, dass der pH-Wert der Subphase und die Ladung der Monolage von großer Bedeutung sind, um die Mineralisation von CP zu kontrollieren.

Die bei der Mineralisation von CP involvierten Proteine sind größtenteils negativ geladen, sodass für die Untersuchung der Biomineralisation von Calciumphosphat vorwiegend anionische Polymere verwendet wurden. Es gibt aber auch ein paar Studien, bei denen Polykationen für die Mineralisation von CP verwendet wurden.^[52,53]

In einer dieser Studien von Junginger et al. wurde das Wachstum von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche unterhalb zwei verschiedener Monolagen aus polykationischen Blockcopolymeren untersucht. Der hydrophile Block bestand in beiden Fällen aus Poly[2-(dimethylamino)ethylmethacrylat] (PDMAEMA). Im Gegensatz zu den Studien von Casse et al. beobachteten Junginger et al. die beste Kontrolle bei tiefen pH-Werten, bei denen die

Aminogruppen protoniert vorliegen. Das bestätigt die oben gemachte Vermutung, dass hohe Ladungsdichten notwendig sind, um die Mineralisation von CP effizient zu kontrollieren. Gleichzeitig sorgt die hohe Ladungsdichte für die Bildung einheitlicher CP Nanoarchitekturen. Bei geringen Ladungsdichten werden hingegen weniger homogene Materialien gebildet.^[43,44,46,51,54]

Der Effekt des Molekulargewichtes der Additive, die für die Bildung der Monolagen verwendet werden, wurde bisher eher weniger beachtet. Daher haben wir in einer vorherigen Studie den Effekt eines Oligomers auf die CP Mineralisation untersucht.^[54] Die Studie zeigte, dass Monolagen aus Polymeren mit einem großen Molekulargewicht^[43–46] eine engere Kontrolle bezüglich der CP Mineralisation zeigen als oligomere Tenside.^[54] Das betrifft alle Aspekte des Minerals: Partikelgröße, Größenverteilung, Partikelmorphologie und Partikelanordnung sind homogener und einheitlicher mit längeren Polymeradditiven als mit dem Oligomer.^[44–46,54] Da dies die einzige Studie über den Effekt eines Oligomers auf die CP Mineralisation ist, ist es schwierig, weitere Schlussfolgerungen zu ziehen.

Zhang et al. untersuchten die Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche unterhalb negativ geladener Monolagen aus Dipalmitoylphosphatidylcholin, Arachidinsäure und Octadecylamin. Alle unterhalb der Monolagen gebildeten Minerale bestanden sowohl aus amorphen als auch kristallinen Kristallphasen.^[48] Aufgrund dessen postulierten die Autoren einen mehrstufigen Bildungsprozess mit der Beteiligung von amorphen Vorläuferphasen. Dieses Modell stimmt mit den Ergebnissen von Dey et al. überein. Diese Gruppe verwendete ebenfalls eine Monolage aus Arachidinsäure für die CP Mineralisation an der Wasser/Luft-Grenzfläche unter physiologischen Bedingungen (in simulierter Körperflüssigkeit und bei 37 °C) und fanden heraus, dass die Templatgrenzfläche die Aggregation von CP Pränukleationsclustern induziert.^[47] Die Verdichtung dieser Cluster führt zu der Bildung einer amorphen Vorläuferphase die schließlich zu Carbonat-Hydroxylapatit führt. Dieser Verlauf konnte lediglich an der Wasser/Luft-Grenzfläche und nicht in Lösung beobachtet werden. Die Arachidinsäure fungiert somit als Kristallisationstemplat.^[47]

Die vorliegende Arbeit untersucht ähnlich zu den Studien von Zhang und Dey et al. den Einfluss von negativ geladenen Amphiphilen auf das Mineralisationsverhalten von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche. Es wurden dabei zwei verschiedene niedermolekulare Amphiphile mit Cholesterol als hydrophobem Block verwendet. Der Unterschied der beiden Amphiphile liegt in der Struktur des hydrophilen Blocks. Während das eine Amphiphil lediglich eine

Carbonsäure als hydrophile Kopfgruppe aufweist, bildet bei dem zweiten Amphiphil ein Dendrimer die hydrophile Kopfgruppe. Beide Amphiphile unterscheiden sich damit in der Anzahl der geladenen Gruppen in der hydrophilen Kopfgruppe und zeigen demnach einen unterschiedlichen Einfluss auf das Mineralisationsverhalten von CP.

Zusätzlich wurden Mineralisationen von CP in Bulklösung mit Nitrilotriessigsäure (NTA) und Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) als Additive durchgeführt. NTA ähnelt im Aufbau dem dendritischem Amphiphil. Es konnte gezeigt werden, dass alle vier Additive effektive Wachstumsmodifikatoren für die CP Mineralisation darstellen. Weiterhin wurde gezeigt, dass die Mineralisation an der Wasser/Luft-Grenzfläche nicht ohne Weiteres mit der Mineralisation in Bulklösung verglichen werden kann.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Biomineralisation

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, beschäftigt sich die Biomineralisation mit der Bildung, den Strukturen und den Eigenschaften anorganischer Mineralien, die sich in biologischen Systemen bilden. Dabei sind Knochen, Zahnschmelz, Korallen, Perlmutter und Molluskenschalen nur einige Beispiele für solche Biomineralien. Diese Minerale weisen hierarchische Strukturen mit einzigartigen und bemerkenswerten optischen, chemischen und mechanischen Eigenschaften auf (siehe Abbildung 1).^[55]

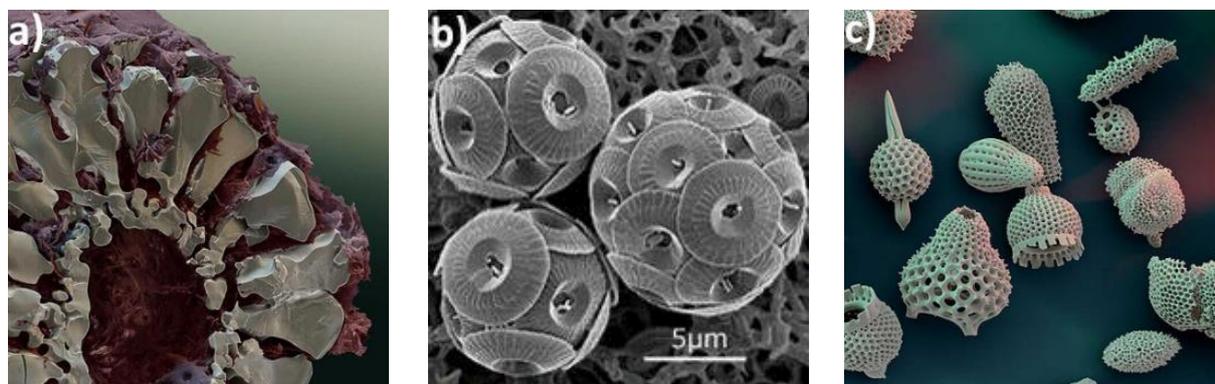


Abbildung 1: Beispiele für Biomineralien: (a) Querschnitt eines Seeigelstachels^[56], (b) Coccolithophorida^[57] und (c) Radiolarien^[56].

Biominerale können nicht nur innerhalb eines Organismus in Form von Knochen und Zähnen, sondern auch außerhalb eines Organismus in Form von Schalen und Stacheln gebildet werden. Sie erfüllen dadurch die verschiedensten Zwecke und dienen unter anderem in Form von Skeletten als Gerüstsubstanz vieler Organismen. Andere Biominerale sorgen in Form von Schalen und Stacheln für den Schutz vor Feinden oder in Form von Zähnen als Werkzeuge.^[1]

In lebenden Organismen erfolgt die Bildung der Minerale durch die gezielte Erzeugung und Freisetzung organischer Materialien und deren Zusammenspiel mit anorganischen Bestandteilen. Als organische Template dienen zum Beispiel Proteine, Lipide, Kohlenhydrate oder Kombinationen derer.^[55,58]

Von besonderem Interesse ist zum einem die Bildung und zum anderem die Verbindung zwischen Struktur und Eigenschaft der einzelnen Biominerale. Dabei gelangen speziell in den letzten zwei Jahrzehnten durch die Entwicklung neuer

Charakterisierungsmethoden Fortschritte auf diesem Gebiet. Wichtige Erkenntnisse wurden bezüglich der Wechselwirkungen an der organischen-anorganischen Grenzfläche und den Hydratationszuständen der einzelnen Minerale während der Mineralisation gewonnen. Weiterhin wurden die Eigenschaften der wässrigen Lösungen, in denen die Mineralisation stattfindet, analysiert und Vorläuferphasen der einzelnen Kristallphasen identifiziert.^[6,55,59]

Ein weiteres wichtiges Themengebiet bildet die Biomimetik. Diese beschäftigt sich mit der Entwicklung und der Nachbildung synthetischer Materialien, die von der Natur inspiriert sind und deshalb unter anderem in der Biomedizin eine große Bedeutung haben.^[55] So können beispielsweise neuartige Implantate für Knochen- und Zahnersatz entwickelt werden. Weiterhin können die Materialien für die Energiespeicherung und für magnetische und elektrische Sensoren eingesetzt werden.^[55] Außerdem rückt die Aufklärung und Behandlung von gesundheitsbezogenen Probleme wie beispielsweise Karies, Knochenfrakturen, Mineralverlust von Knochen, Nierensteine etc. immer mehr in den Vordergrund.^[60]

2.2 Calciumphosphat

Calciumminerale machen etwa 50 % der gesamten Biominerale aus. Calcium erfüllt viele Funktionen im Zellstoffwechsel und ist deshalb das Kation der Wahl für viele Organismen. Aufgrund dessen wurde das Gebiet der Biomineralisation bis zu den frühen 1980-iger Jahren als Kalzifikation bezeichnet. Biominerale, die Calcium beinhalten sind unter anderem Calciumphosphate, Calciumcarbonate und Calciumoxalate.^[61]

Für den Menschen stellt CP eines der wichtigsten Biominerale dar. Dieses bildet insbesondere in Form von Hydroxylapatit den anorganischen Bestandteil von menschlichen Zähnen, Knochen und Sehnen.^[2]

Es werden eine ganze Reihe verschiedener Calciumphosphatmodifikationen unterschieden, die durch die unterschiedlichen Protolysegrade der Phosphorsäure und den möglichen Einbau von Kristallwasser entstehen (siehe Tabelle 1).^[1] Bei Körpertemperatur sind lediglich zwei dieser Calciumphosphate stabil, wenn sie in Kontakt mit einem wässrigen Medium wie beispielsweise Körperflüssigkeiten stehen. Bei einem pH-Wert unter 4,2 ist Brushit (DCPD) die stabilste Phase, wohingegen bei einem pH-Wert über 4,2 Hydroxylapatit (HAP) stabiler ist.^[62]

Tabelle 1: Die wichtigsten Calciumphosphatphasen.^[1] Die für Studie relevanten Kristallphasen sind hervorgehoben.

Verbindung	Abkürzung	Formel	Ca/P-Verhältnis
Monocalciumphosphat-Monohydrat	MCPM	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Monocalciumphosphat-Anhydrat	MCPA	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5
Dicalciumphosphat-Dihydrat (Brushit)	DCPD	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	1,0
Dicalciumphosphat-Anhydrat (Monetit)	DCPA	CaHPO_4	1,0
Octacalciumphosphat	OCP	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	1,33
α -Tricalciumphosphat	α -TCP	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
β -Tricalciumphosphat	β -TCP	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Amorphes Calciumphosphat	ACP	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n \text{H}_2\text{O}$	1,2-2,5
Calcium-defizitäres Hydroxylapatit	CDHA	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})$ ($0 < x < 1$)	1,5-1,67
Hydroxylapatit	HAP	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6-x(\text{OH})_2$	1,67
Tetracalciumphosphat	TTCP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0

2.2.1 Knochen

Bei Knochen handelt es sich um ein hochorganisiertes Gewebe, welches auf nanostruktureller Ebene hauptsächlich aus nanokristallinen HAP und Kollagenfasern besteht. Das HAP ist in Form von kleinen Kristallen plättchenförmig in die Kollagenmatrix eingebettet. Weitere Bestandteile bilden Wasser, nichtkollagene Proteine, Lipide, vaskuläre Elemente und Zellen. Der anorganische Bestandteil HAP macht etwa 50-70 % des menschlichen Knochens aus.^[55,63,64]

Dabei erfüllen die anorganischen und organischen Bestandteile verschiedene Funktionen. Die anorganischen Bestandteile sind für die Härte und die Stabilität des Knochens

zuständig, wohingegen das Kollagen für die Zugfestigkeit und die Elastizität verantwortlich ist. Knochen aus reinem Hydroxylapatit wären beispielsweise brüchig und steif. Die Kombination aus organischen und anorganischen Komponenten erhöht hingegen die Widerstandsfähigkeit verglichen zu reinem HAP.^[1,58,63]

Da die anorganische Komponente für die Härte der Knochen verantwortlich ist, kann durch die Variation derer die Härte beeinflusst werden und so den gegebenen Anforderungen angepasst werden. So bestehen beispielsweise die Knochen eines Hirsches aus 50 Gew.% anorganischer Minerale, wohingegen die Knochen eines Wals aus mehr als 80 Gew.% HAP bestehen. Die Knochen des Wals sind deutlich steifer, wohingegen sich der Hirsch durch seinen geringeren Mineralanteil schnell und agil bewegen kann.^[58]

Auf makrostruktureller Ebene kann der Knochen in kompakte und poröse Knochensubstanz unterteilt werden. Der kompakte Knochen wird auch kortikaler Knochen genannt, bildet die äußere Knochenschicht und nimmt etwa 80 % des Knochens ein. Diese Schicht ist relativ dicht und umhüllt die poröse Knochensubstanz, die auch als schwammartiger Knochen bezeichnet wird und die innere Knochenschicht bildet. Der poröse Knochen ist um einiges leichter und weniger dicht als der kompakte Knochen und nimmt rund 20 % des Knochens ein. Weiterhin enthält die poröse Knochensubstanz deutlich mehr Poren und demnach mehr Blutgefäße. Die Poren des porösen Knochens nehmen Durchmesser zwischen einigen Mikrometern bis zu einigen Millimetern an, wohingegen die Porendurchmesser im kompakten Knochen lediglich 10-20 µm betragen.^[1,63]

Knochen werden auch oftmals als „lebendes Mineral“ bezeichnet, da sie einem permanenten Wachstum, einer permanenten Auflösung und einer permanenten Umgestaltung unterliegen. Bei der Mineralisation von HAP sind hauptsächlich drei verschiedene Zelltypen beteiligt, die Osteoblasten, die Osteozyten und Osteoklasten.^[1,63,64]

Die Osteoblasten sind für die Bildung der organischen Matrix und somit neuer Knochensubstanz verantwortlich. Dabei scheiden sie zunächst Kollagen ab, welches mit nichtkollagenen Proteinen umhüllt wird. Diese nichtkollagenen Proteine wirken wie eine Art Kleber und können so Calcium und Phosphat aus dem Blutkreislauf aufnehmen und neue Knochen bilden. Die Knochenneubildung wird auch als Osteogenese bezeichnet, wobei im Laufe dieser die unreifen Osteoblasten nach und nach in den mineralisierten Knochen eingebettet werden und so zu den sogenannten Osteozyten heranreifen. Diese dienen als

Transportmittel der Minerale zwischen Blut und Knochen und sind für den Erhalt des Knochens verantwortlich.^[1,63,64]

Die Osteoklasten sind große mehrkernige Zellen, die sich auf der Knochenoberfläche befinden und für die Resorption des Knochens und für den Knochenabbau zuständig sind. Die Resorption wird vermutlich durch die Freisetzung von Säuren, Komplexbildnern und extrazellulären Proteasen auf der Knochenoberfläche verursacht, wodurch die Auflösung der Minerale und des Kollagens des gereiften Knochens erfolgt. Die Calcium- und Phosphationen gelangen schließlich wieder in den Blutkreislauf und stehen zur Mineralisation neuer Knochensubstanz zur Verfügung.^[63,64]

Diese ganzen Prozesse befinden sich bei gesunden Knochen im Gleichgewicht. Ist dieses Gleichgewicht hingegen gestört und bauen die Osteoklasten mehr Knochen ab, als die Osteoblasten bilden können, kommt es zur sogenannten Osteoporose. Die Osteopetrose stellt den entgegengesetzten Fall da, bei dem der Knochenaufbau gegenüber dem Knochenabbau überwiegt.^[1,63] Infolge der steigenden Lebenserwartung in den Industrieländern treten unter anderem diese Krankheiten vermehrt auf. Zudem werden immer mehr Knochenersatzmaterialien benötigt, um kaputte Knochen beispielsweise als Folge von Krankheiten zu ersetzen. Synthetische Biomaterialien wie beispielsweise Metalle, Keramiken oder Polymere sind in ihrer Anwendung limitiert.^[62] Eine perfekte Lösung dafür wäre ein Knochenersatz bestehend aus im Labor synthetisierten CP. Um das zu realisieren, sind jedoch weitere Forschungen notwendig.

2.2.2 Zähne

Die Zähne sind eines der weiteren wichtigen Mineralien im menschlichen Körper. Dabei müssen Zähne eine harte Oberfläche besitzen um die Nahrung beißen und zermahlen zu können. Weiterhin sollten diese wenn möglich ein ganzes Leben lang halten.^[65]

Grob lassen sich Zähne in Zahnkrone und Zahnwurzel unterteilen, welche durch das Zahnfleisch abgegrenzt werden.^[63] Die menschlichen Zähne sind dabei aus drei Hartgeweben aufgebaut, dem Zahndentin, dem Zahnschmelz und dem Zahnzement. Das Dentin besteht etwa aus 70 Gew.% anorganischen Verbindungen, 10 Gew.% Wasser und 20 Gew.% organischer Matrix vorwiegend Kollagenfasern und ähnelt der Zusammensetzung von Knochen. Dentin ist verglichen mit Knochen einheitlicher strukturiert und ist aus deutlich

dünnere Hydroxylapatitkristallen aufgebaut. Der Zahnschmelz weist einen deutlich höheren Mineralanteil auf und besteht aus 95 Gew.% anorganischen Verbindungen, 4 Gew.% Wasser und lediglich 1 Gew.% organischer Matrix. Der Zahnschmelz ist damit das härteste Gewebe im menschlichen Körper. Bei der organischen Matrix im Zahnschmelz sind zwei Proteinklassen von großer Bedeutung, das Enamelin, welches kovalent mit Polysacchariden gebunden ist, und das hydrophobe Amelogenin.^[65]

Der Zahnzement weist von den drei Hartgeweben den geringsten Mineralanteil auf und setzt sich aus rund 61 Gew.% anorganischen Verbindungen, 12 Gew.% Wasser und 27 Gew.% organischer Matrix zusammen.

Die anorganische Komponente der drei Hartgewebe Zahndentin, dem Zahnschmelz und dem Zahnzement, bildet hauptsächlich das HAP. Die Kombination dieser drei Hartgewebe sorgt dafür, dass der Zahn mechanischen Kräften wie Kauprozesse, chemischen und physikalischen Einflüssen wie die Veränderung des pH-Wertes oder der Temperatur und biologischen Einflüssen durch Bakterien standhalten kann.^[65,66]

Besonders in den letzten Jahren gelang es Forschern der Harvard Universität in Cambridge Fortschritte auf dem Gebiet der Zahnregeneration zu erzielen. Der Arbeitsgruppe um Mooney et al. gelang es durch die Stimulation mit Laserlicht geringer Energie im Dentin reaktive Sauerstoffspezies zu bilden. Diese reaktive Sauerstoffspezies sorgt für die Aktivierung des Wachstumsmodifikators TGF- β 1, der wiederum die Stammzellen dazu anregt Dentin und so einen neuen Zahn zu bilden.^[67]

2.3 Klassische und nicht-klassische Kristallisation

2.3.1 Klassische Kristallisation

Die klassische Kristallisation beruht auf der Assoziation von Ionen, Atomen oder Molekülen an bestimmten aktiven Stellen einer Kristalloberfläche. Dadurch kommt es zur Bildung kleiner Inseln auf der Kristalloberfläche, wodurch Stufen und Knicke entstehen. Die Anlagerung von Ionen, Atomen oder Molekülen an diese Stellen führt schließlich zum Kristallwachstum.^[72]

Ein Kristallisationsprozess umfasst also zwei Schritte, die Keimbildung und das Kristallwachstum. Erfolgt die Bildung eines kristallinen Feststoffes, so wird dieser Prozess als

Kristallisation bezeichnet. Wird hingegen ein amorpher Feststoff gebildet, so spricht man von einer Fällungsreaktion. Es kann natürlich auch zur Bildung eines amorphen Feststoffes kommen, der sich dann in einen kristallinen Feststoff umwandelt. In beiden Fällen erfolgt zunächst die Keimbildung, die homogen oder heterogen ablaufen kann. Bei einer homogenen Keimbildung erfolgt die spontane Bildung erster Keime beispielsweise in der Lösung oder in der Schmelze. Von einer heterogenen Keimbildung spricht man, wenn die Keimbildung zum Beispiel durch das Einbringen eines Impfkristalles oder durch Verunreinigungen hervorgerufen wird und an einer bereits existierenden Oberfläche erfolgt.^[1,68]

Um eine Kristallisation aus einer Lösung zu erzielen, muss die Ionenkonzentration der Reaktionspartner solange erhöht werden, bis erste Keime gebildet werden. Eine solche Keimbildung kann auf verschiedenen Wegen erfolgen. Eine Möglichkeit wäre die Zugabe eines schlechten Lösungsmittels, beispielsweise die Zugabe von Wasser zu einer ethanolischen Lösung mit Schwefel um den Schwefel auszufällen.^[68]

Die Bildung solcher Keime kann mit Hilfe des LaMer Modells beschrieben werden (Abbildung 2). Zunächst muss die Konzentration der gelösten Ionen bis zu einer minimalen Konzentration erhöht werden (c_0), bei der es zur Keimbildung kommt. Unterhalb dieser Konzentration findet keine Keimbildung statt. Die Konzentration der Ionen steigt daraufhin bis zur maximalen Konzentration (c_N) für die Keimbildung an. Ab diesem Punkt verläuft die Keimbildung sehr schnell und die Konzentration der Ionen sinkt, da die Ionen durch die Keimbildung und die Kristallisation verbraucht werden. Der in Abbildung 2 gekennzeichnete Bereich entspricht der Übersättigung der Lösung. Es werden solange Keime gebildet, bis die Konzentration der Ionen das Löslichkeitsprodukt c_0 erreicht. Ab diesem Punkt sinkt durch das einsetzende Kristallwachstum die Konzentration der Ionen weiter bis das Gleichgewicht (c_s) erreicht ist.

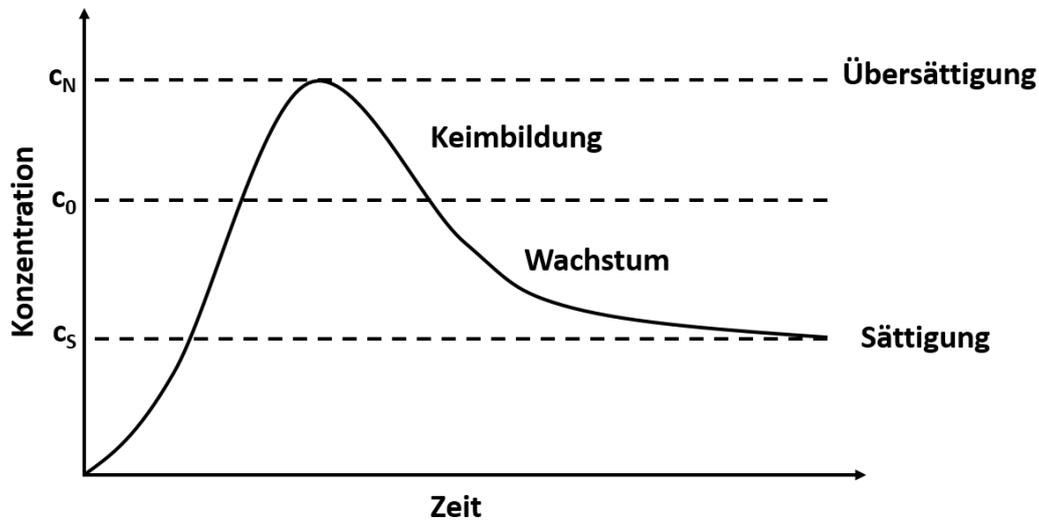


Abbildung 2: Kristallisationsmodell nach LaMer adaptiert von Schubert und Hüsing in „Synthesis of inorganic materials“.^[68]

Bei der homogenen Keimbildung werden die einzelnen Keime mit gleicher Wahrscheinlichkeit gebildet. Die Keimbildung ist kinetisch gehemmt, sodass in einer übersättigten Lösung, obwohl das Löslichkeitsprodukt überschritten ist, kein Niederschlag ausfällt. Damit es zur Kristallisation kommt, muss zuerst die erforderliche Aktivierungsenergie für die einsetzende Keimbildung überwunden werden. Diese Aktivierungsenergie wird als freie Keimbildungsenthalpie (ΔG) bezeichnet und kann für sphärische Partikel mit Gleichung (1) beschrieben werden.^[1,68]

$$\Delta G = -\frac{4}{3}\pi r^3 \cdot \Delta G_V + 4\pi r^2 \gamma \quad (1)$$

r ist der Radius des sphärischen Partikels, ΔG_V ist die Änderung der freien Volumenenergie pro Volumeneinheit und γ die Grenzflächenenergie des Kristalls. $-\frac{4}{3}\pi r^3$ ist der Volumenterm und $4\pi r^2$ der Oberflächenterm des sphärischen Partikels.

Bei Keimen mit kleinen Radien dominiert der Oberflächenterm. Werden die Keime hingegen größer, nimmt der Radius zu und die Energie des Systems (ΔG) steigt. Da die Keime jedoch thermodynamisch instabil sind, kommt es zur Auflösung der Keime. Für die Keime die überleben und größer werden, überwiegt der Volumenterm über den Oberflächenterm und die Energie des Systems nimmt mit zunehmender Keimgröße ab. Dieser Sachverhalt ist in Abbildung 3 dargestellt.^[68]

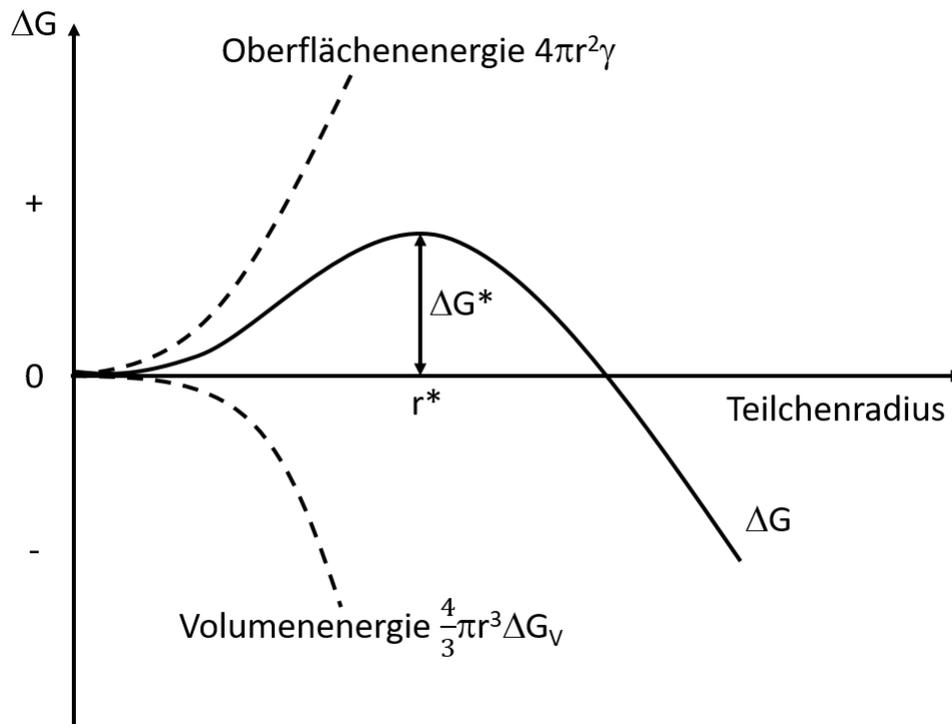


Abbildung 3: Veränderung der freien Keimbildungsenergie mit zunehmenden Teilchenradius während eines Kristallisationsprozesses adaptiert von „Synthesis of inorganic materials“.^[68]

Ist diese Energiebarriere und damit der kritische Radius (r^*) der Keime überwunden, sind die Keime stabil. Der kritische Radius kann mittels Gleichung 2 berechnet werden.

$$r^* = \frac{-2\gamma}{\Delta G} \quad (2)$$

Eine Fällungsreaktion kann neben der Keimbildung und dem Kristallwachstum zusätzliche Prozesse wie die Ostwaldreifung, die Rekristallisation, die Koagulation und die Agglomeration beinhalten. Die Kontrolle dieser Prozesse ermöglicht die Synthese von Partikeln mit einer monodispersen Größenverteilung und einer einheitlichen Morphologie. Da die Größe und Morphologie der Kristalle von den Reaktionsbedingungen und der chemischen Zusammensetzung abhängt, ist es nicht möglich diese vorauszusagen.^[1,68]

Von entscheidender Bedeutung sind außerdem die Ostwaldreifung und die Ostwaldregel. Bei der Ostwaldreifung lösen sich die kleineren Partikel aufgrund ihrer besseren Löslichkeit zu Gunsten der größeren Partikel auf. Die Ostwaldregel besagt, dass bei der Kristallisation zunächst die thermodynamisch instabilere Kristallphase ausfällt. Da diese jedoch im Vergleich zu den thermodynamisch stabileren Phasen eine höhere Löslichkeit

aufweist, kommt es in Laufe der Kristallisation zur Phasenumwandlung der thermodynamisch instabileren Phasen in die thermodynamisch stabileren Phasen.^[1]

Bei der Kristallisation von Calciumphosphat wird zu Beginn in aller Regel eine thermodynamisch instabile Phase wie beispielsweise ACP oder DCPD gebildet, die sich dann über OCP in die thermodynamisch stabilste Modifikation HAP umwandelt. Die einzelnen Phasenumwandlungen sind abhängig von den Reaktionsbedingungen wie beispielsweise dem pH-Wert, der Temperatur, dem Ionenprodukt etc. So ist beispielweise im sauren Milieu DCPD die stabilste Calciumphosphatmodifikation, wohingegen im neutralen und basischen Milieu HAP die stabilste Modifikation darstellt.^[69–71]

2.3.2 Nicht-klassische Kristallisation

Studien zeigten, dass biomimetische Mineralisationen auch über nicht-klassische, Partikel-vermittelte Reaktionskanäle ablaufen können. Bei der nicht-klassischen Kristallisation kann die Kristallisation auch durch Selbstorganisation oder Umwandlung von metastabilen oder amorphen Vorläuferpartikeln erfolgen. Außerdem können mehrere Keimbildungsstufen eine Superstruktur aus Nanopartikeln bilden.^[68] Die nicht-klassische Kristallisation verläuft unabhängig vom Ionenprodukt, vom Löslichkeitsprodukt und von der Änderung des osmotischen Drucks oder des pH-Wertes während der Kristallisation.^[17,73]

Studien von Gower et al. besagen, dass in Anwesenheit kleiner Mengen eines anionischen Polymers die Kristallisation über „polymer-induced liquid-precursor“ (PILP) ablaufen kann. Der PILP Prozess verläuft über eine hochhydratisierte flüssig-amorphe Mineralphase.^[74] Studien von Penn und Banfield et al. zeigen zusätzlich, dass das Kristallwachstum durch orientierte Anlagerung zur Bildung organisierter Überstrukturen führen kann.^[75,76]

Cölfen et al. entwickelten ein weiteres nicht-klassisches Kristallisationsmodell und beschrieben die möglichen Reaktionskanäle folgendermaßen (Abbildung 4):

(a) beschreibt zunächst den Weg der klassischen Kristallisation. Ausgehend von primären Bausteinen wie Atomen, Ionen oder Molekülen werden zunächst Cluster gebildet. Diese Cluster können je nach Zusammenspiel von Oberflächen- und Kristallgitterenergie entweder wachsen oder zerfallen. Das Kristallwachstum findet nur für Cluster statt, die zunächst eine kritische Größe erreicht haben. In diesem Fall wird die freie Enthalpie im Laufe

des Kristallwachstums negativ, da der Gewinn an Gitterenergie den Verlust an Oberflächenenergie überkompensiert.^[73]

(b) beschreibt das Kristallwachstum der nicht-klassischen Kristallisation durch die Aggregation oder Fusion von Nanopartikeln. In einem langsamen, thermodynamisch kontrollierten System, können die primär gebildeten Vorläufernanopartikel durch orientierte Anlagerung zu einem Iso-orientierten Kristall heranwachsen. Die Eliminierung der hochenergetischen Flächen zwischen den Iso-orientierten Kristall kann zur Bildung eines großen Einkristalls führen. Das erfordert jedoch, dass sich die primären Nanopartikel entlang einer gemeinsamen kristallographischen Achse ausrichten.^[17,72,73,77,78] Schnelle, kinetisch kontrollierte Prozesse führen hingegen in der Regel zu polykristallinen Produkten.^[17,72]

(c) zeigt einen Spezialfall der nicht-klassischen Kristallisation. Durch die hohe Bindungsaffinität von organischen Liganden (beispielsweise Polymere), können diese an die Nanopartikel gebunden werden. Wenn diese Nanopartikel durch Grenzflächenwechselwirkungen ausgerichtet werden, können sich sogenannte Mesokristalle bilden.^[72,73,78] Solche Mesokristalle sind von großer Bedeutung für die Struktur und die Eigenschaften vieler Biominerale.^[72]

(d) beschreibt die Bildung amorpher Partikel, die zu komplizierten Strukturen führen.^[68]

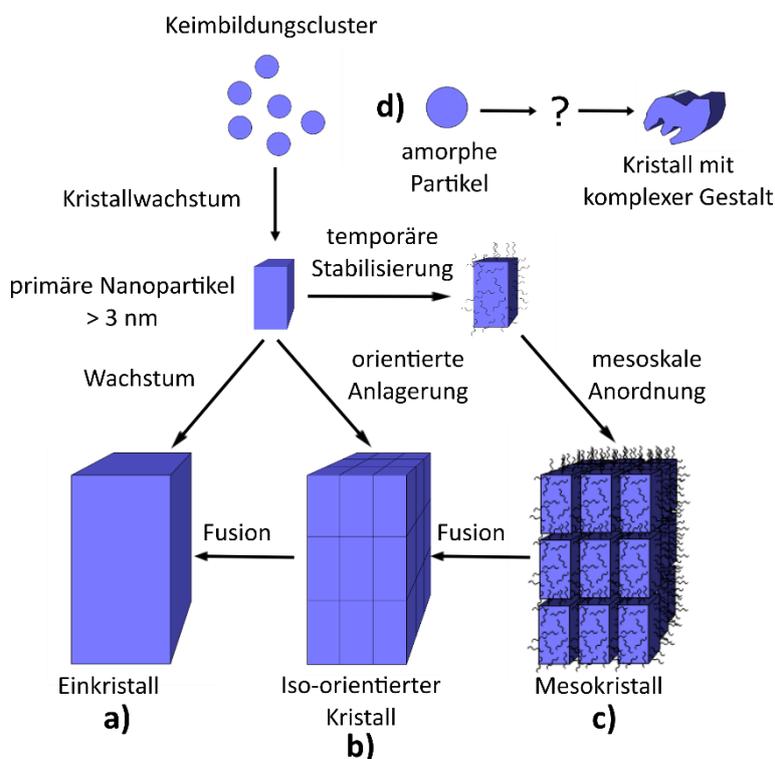


Abbildung 4: Schematische Darstellung klassischer (a) und nicht-klassischer (b-d) Kristallisation, adaptiert von Cölfen et al.^[77]

2.4 Methoden

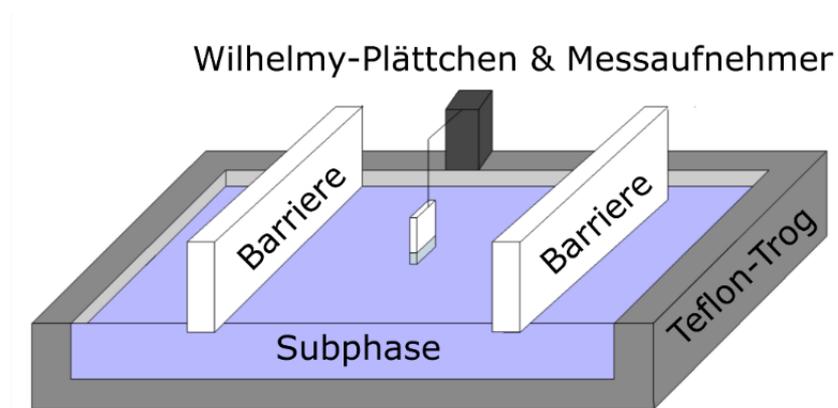
2.4.1 Langmuir Monoschichten von Amphiphilen

Amphiphile Moleküle wie Tenside, Fettsäuren, Lipide oder amphiphile Polymere können an der Wasser/Luft-Grenzfläche unlösliche Monolagen ausbilden.^[79] Diese Eigenschaft beruht auf dem Vorhandensein eines hydrophoben Blocks und einer beziehungsweise im Fall von Lipiden zwei hydrophilen Kopfgruppen. Die polaren Kopfgruppen der Amphiphile stehen mit dem Wasser in Kontakt und werden dadurch hydratisiert, wohingegen die hydrophoben Blöcke (z.B. langkettige Alkylketten) in die Luft ragen. Das führt zur Reduktion der Oberflächenspannung des Wassers (72,8 mN/m bei 20 °C).^[80]

Mit Hilfe einer Langmuir-Filmwaage kann die Dichte der Moleküle durch Kompression oder Expansion der Barrieren manipuliert werden. Dabei verändert sich sowohl der Oberflächendruck als auch die Fläche pro Molekül. Der Oberflächendruck π ist die Differenz zwischen der Oberflächenspannung der reinen Subphase (σ_0) und der Oberflächenspannung, der mit Amphiphilen bedeckten Subphase (σ) (siehe Gleichung 3).^[81-83]

$$\pi = \sigma_0 - \sigma \quad (3)$$

Eine Langmuir-Filmwaage (auch Langmuir-Trog genannt, Schema 1) besteht aus einem Teflontrog mit ein oder zwei beweglichen Barrieren. Der Trog wird mit einer wässrigen Subphase, meistens MilliQ® Wasser oder Pufferlösungen gefüllt, wobei die Subphase mit Hilfe eines Thermostaten temperiert werden kann.



Schema 1: Schematische Darstellung eines Langmuir-Trogs.

Zunächst wird das Amphiphil in einem flüchtigen Lösungsmittel, welches nicht mit der Subphase mischbar ist (meistens Chloroform), gelöst und auf der Wasser/Luft-Grenzfläche gespreitet. Nach Verdampfen des Lösungsmittels entsteht ein monomolekularer Film an der Wasser/Luft-Grenzfläche. Monomolekulare amphiphile Filme zeigen bei der Kompression analog zu dreidimensionalen Systemen verschiedene Phasen und Phasenumwandlungen. Diese können sehr präzise durch die Aufnahme des Oberflächendrucks π als Funktion der vom Film belegten Fläche A (π -A Isotherme) identifiziert werden. Fettsäuren, Phospholipide und einige andere Amphiphile zeigen oftmals die in Abbildung 5 dargestellten Phasen und Phasenübergänge.^[80,81,83]

Bei sehr großen Flächen ($> 100 \text{ \AA}^2$) befindet sich der Film im sogenannten gasanalogen Zustand (engl. gaseous, G). In diesem Zustand sind die einzelnen Moleküle weit voneinander entfernt und wechselwirken nicht miteinander. Dementsprechend ist der Oberflächendruck sehr klein ($< 1 \text{ mN/m}$) und schwer messbar. Die gemittelte Fläche pro Molekül an der Wasser/Luft-Grenzfläche ist viel größer als die Molekülgröße.^[81,83]

Wird der Film komprimiert sinken die intermolekularen Abstände und es kommt zu Wechselwirkungen zwischen den Molekülen und zum Anstieg des Oberflächendrucks. Die Ausbildung eines Plateaus kennzeichnet die Phasenumwandlung erster Ordnung vom 2D gasanalogen Zustand in den flüssig-expandierten (engl. liquid-expanded, LE) Zustand. Innerhalb dieses Plateaus koexistieren der gasanaloge und der expandiert flüssiganaloge Zustand. Bei weiterer Kompression befinden sich die Amphiphile schließlich im LE Zustand, wobei die Alkylketten der Amphiphile in einer ungeordneten Konformation vorliegen.^[80,83]

Bei weiterer Filmkompression findet eine Phasenumwandlung erster Ordnung in den flüssig-kondensierten (engl. liquid-condensed, LC) Zustand statt. Das Plateau kennzeichnet den Koexistenzbereich des LE und LC Zustands. Im LC Zustand sind die Moleküle dicht und einheitlich gepackt. Die Isothermen einiger Amphiphile zeigen zusätzlich einen Knick in der Isotherme. Dieser kennzeichnet einen Phasenübergang zweiter Ordnung von der gekippten flüssig-kondensierten Phase in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase. Der ungeneigte LC Zustand wird in der Literatur oftmals auch als festanaloger Zustand bezeichnet. In diesem Zustand befinden sich die Amphiphilmoleküle in der dichtesten Packung und können sich nicht mehr frei bewegen. Die Alkylketten des hydrophoben Restes sind vertikal ausgerichtet und die hydrophilen Kopfgruppen weitestgehend dehydriert.

Wird der Film weiter komprimiert, kommt es schließlich zum Filmkollaps, der durch ein starkes Absinken des Oberflächendrucks gekennzeichnet ist.^[80,83] Der Kollapsdruck ist abhängig von der Temperatur, dem pH-Wert, der Zusammensetzung der Subphase und der Kompressionsgeschwindigkeit.^[81,82]

Die π -A Isothermen geben nicht nur Aufschluss über die Stabilität der Monoschicht sondern geben auch Informationen über die Neuordnung der Moleküle in dem 2D System sowie Informationen über Phasenumwandlungen und Konformationsumwandlungen.^[84]

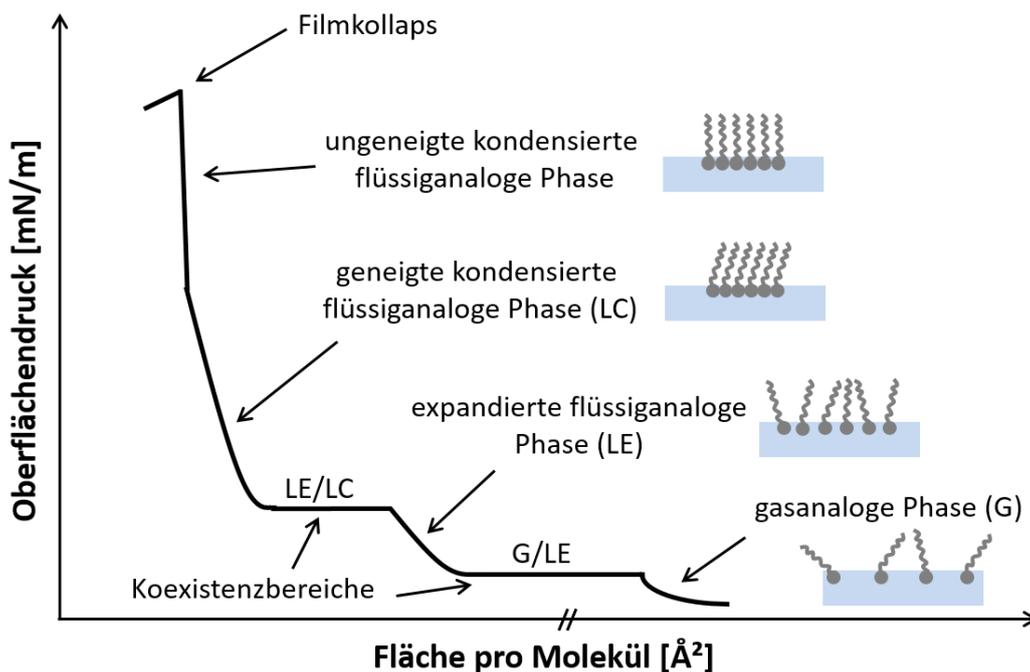


Abbildung 5: Schematischer Verlauf einer Langmuir-Isotherme mit möglichen Phasenübergängen nach Kaganer et al.^[85]

2.4.2 Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS)

Eine effektive Messmethode um dünne Monolagen zu untersuchen, stellt die Infrarot-Reflexions-Absorption-Spektroskopie (engl. infrared reflection absorption spectroscopy, IRRAS) dar. Dabei wird die Probe in einem bestimmten Einfallswinkel mit s-polarisiertem (senkrecht zur Einfallsebene) oder p-polarisiertem Licht (parallel zur Einfallsebene) bestrahlt. Anschließend wird das reflektierte Licht im gleichen Winkel wie der Einfallswinkel detektiert und die Absorption der IR Strahlung des reflektierten Strahls gemessen. Die einfallende IR Strahlung erzeugt in den absorbierten Molekülen ein Dipolmoment. Sind die Dipole senkrecht

zur Oberfläche ausgerichtet, so kommt es zu einer Verstärkung. Stehen die Dipole parallel zur Oberfläche, so kommt es zu einer Auslöschung der Signale.^[80,83]

Ein IRRAS Trog ist unterteilt in einen Probenrog und einen Referenzrog. Der Probenrog beinhaltet zum einen die gewünschte Subphase, auf der das zu untersuchende Amphiphil gespreitet wird. Der Referenzrog enthält nur die Subphase. Mit Hilfe der Shuttletechnik kann der Trog zwischen Probenrog und Referenzrog hin und her bewegt werden. Das ermöglicht zum einen die vom Wasserdampf hervorgerufenen Schwingungsbanden zu eliminieren und zum anderen eine zeitnahe Spektrenaufnahme von Probe und Referenz.^[86] Das Differenzspektrum der beiden Spektren gibt Aufschluss über die Absorptionsbanden des jeweiligen Amphiphils, die charakteristisch für bestimmte chemische Gruppen sind.^[87]

Die Kompression der Monolage führt zum Beispiel zur Änderung der Orientierung der Dipolmomente. Weiterhin können mittels IRRAS die Wechselwirkungen zwischen der Monolage und Additiven in der Subphase bestimmt werden. Diese Wechselwirkungen sorgen für eine Veränderung der charakteristischen Vibrationsbanden der Monolagemoleküle beziehungsweise der Additive.^[80,83]

In dieser Arbeit wurde IRRAS zum einen für die Aufklärung der Phasenübergänge der beiden Amphiphile und zum anderen, für den zeitlichen Überblick des Mineralisationsverlaufs von CP eingesetzt. Die Filmdicke ist beispielsweise proportional zur Intensität der OH-Streckschwingung.^[88] Die Auswertung dieser Bande kann beispielweise eine Konformationsänderung von der gekippten flüssig-kondensierten Phase in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase anzeigen. Für die Mineralisation von CP unterhalb der Amphiphilmonolage konnte der Fortschritt der Mineralisation durch die Intensitätszunahme der Bande der P-O Streckschwingung beurteilt werden.

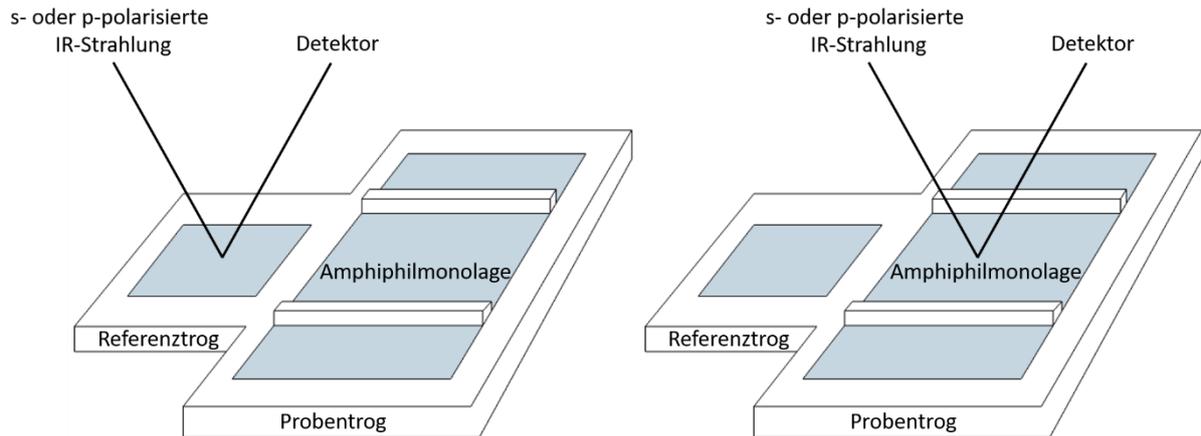


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Aufbaus eines IRRAS Trogs. Aufnahme des Referenzspektrums (links) und Aufnahme des Probenspektrums (rechts).

2.4.3 Rasterkraftmikroskopie (AFM)

Die Rasterkraftmikroskopie (engl. atomic force microscopy, AFM) wurde 1985 von Binnig, Quate und Gerber erfunden und basiert auf Messungen verschiedener Kräfte (z.B. anziehende, abstoßende, magnetische, elektrostatische und Van-der-Waals Kräfte) zwischen einer Sonde und der Probenoberfläche.^[90,91] Die Rasterkraftmikroskopie unterscheidet sich deutlich zu der optischen Mikroskopie und der Elektronenmikroskopie. Beim AFM wird eine scharfe Spitze, welche an einer Blattfeder, dem sogenannten Cantilever, befestigt ist, entlang der Probenoberfläche bewegt und so ein Höhenprofil der Oberfläche mit hoher Auflösung erstellt.^[92] Die unterschiedlichen Kräfte in der Nähe der Probenoberfläche bewirken, dass der Cantilever entweder angezogen oder abgestoßen wird. Diese vertikale Verschiebung kann in hoher Genauigkeit durch die Ablenkung eines Laserstrahls auf der Rückseite des Cantilevers erfasst werden.^[93,94]

Eines der großen Vorteile eines Rasterkraftmikroskops ist es, dass dieses für Isolatoren, Halbleiter und Leiter verwendet werden kann.^[95] Weiterhin können viele verschiedene Messmodi unterschieden werden, wie zum Beispiel der Kontakt-Modus (engl. contact-mode), der Nicht-Kontakt-Modus (engl. non-contact mode) und der Intermittierender Modus (engl. tapping mode).^[92]

2.4.4 Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS)

Die Röntgenphotoelektronenspektroskopie (engl. X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) ermöglicht es die elementare und chemische Zusammensetzung sowie die elektronische Struktur und die Bindungsverhältnisse von Grenz- oder Oberflächen zu bestimmen.^[96]

Das physikalische Messprinzip beruht dabei auf dem von Heinrich Hertz 1887 entdeckten photoelektrischen Effekt. In den 1960 Jahren gelang es Kai Siegbahn die kinetische Energie von Elektronen (KE) zu messen und so ihre Bindungsenergie (BE) zu bestimmen. Die Entwicklung des ersten Ultrahochvakuumsystems 1972 eröffnete weitere Türen dieser Messmethodik.^[96,97]

Ein XP Spektrometer besteht unter anderem aus einer Vorkammer, einer Probenkammer und einer monoenergetischen Röntgenquelle. Die von der Probe emittierten Elektronen werden mittels eines geeigneten Linsensystems nach ihrer kinetischen Energie aufgelöst. Dieses Linsensystem ist an einen Elektronen-Energie Analysator gekoppelt und der Fluss der emittierten Elektronen wird von einem Elektronendetektor erfasst. Dieser ist mit einem Computer mit der entsprechenden Software gekoppelt.^[96–98]

Bei der XPS wird die Probe in einer Kammer im Ultrahochvakuum mit Röntgenstrahlung einer spezifischen Wellenlänge bestrahlt. Die Atome in der Probe absorbieren diese Röntgenstrahlung und emittieren im Gegenzug Photoelektronen. Die Energien dieser Photoelektronen sind für jedes Element charakteristisch und die Intensitäten der emittierten Photoelektronen sind proportional zur Konzentration des jeweiligen Elements.^[96–98]

Die kinetische Energie des emittierten Photoelektrons kann mit Gleichung 4 bestimmt werden.

$$KE = h \cdot \vartheta - BE - \phi_{\text{Spektrometer}} \quad (4)$$

Das Plancksche Wirkungsquantum h und die Frequenz ϑ sind durch die Energie der eingestrahlten Röntgenstrahlung gegeben. Die Austrittsarbeit des Spektrometers $\phi_{\text{Spektrometer}}$ wird kalibriert.^[96,97]

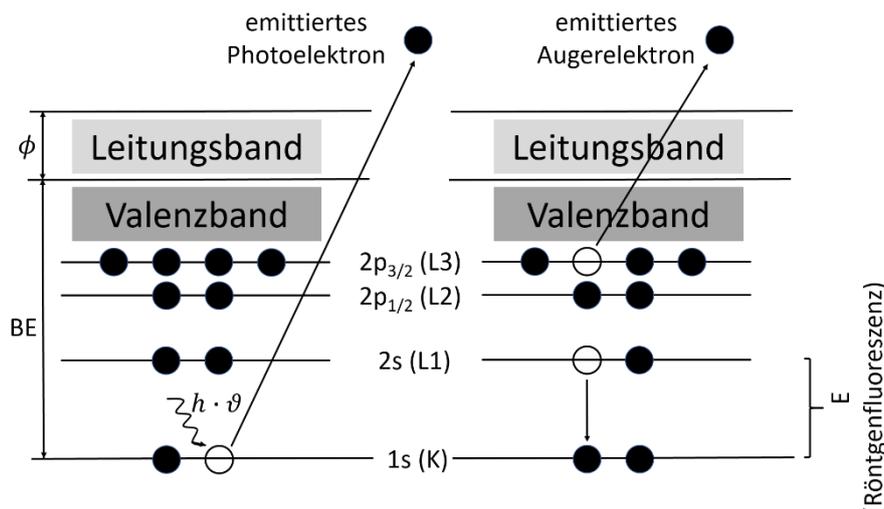
Um die Emission von Photoelektronen mit einer diskreten Bindungsenergie zu ermöglichen, ist der Einsatz einer monoenergetischen Röntgenquelle notwendig. Um einen

Vergleich zwischen verschiedenen Röntgenquellen zu ermöglichen, werden XP Spektren zudem meist in einer Bindungsenergieskala angegeben. Aus Gleichung 4 ergibt sich:

$$BE = h \cdot \nu - KE - \phi_{\text{Spektrometer}} \quad (5)$$

Bei der XPS absorbieren die Atome zunächst die eingestrahlte Röntgenstrahlung und emittieren infolge dessen Photoelektronen. Aufgrund der hohen Energie der Röntgenstrahlung sind die emittierten Photoelektronen in der Nähe des Kerns am stärksten in den XP Spektren zu erkennen. Die Photoelektronen, die aus dem Valenzband emittiert werden, sind meist schlecht aufgelöste Linien mit geringen Intensitäten und sind bei kleinen Bindungsenergien anzutreffen. Die Photoelektronen in der Nähe der Oberfläche (ca. 10 nm) besitzen eine ausreichende Energie um ohne Streuung die Probe zu verlassen und können so im XPS detektiert werden. Die Photoelektronen, die unelastisch gestreut werden, tragen zum Hintergrund des XP Spektrums bei.^[97]

Nach der Emission der Photoelektronen hat das ionisierte Atom zwei Möglichkeiten, die überschüssige Energie loszuwerden und in seinen Grundzustand zurückzukehren. Ein Elektron aus einer höheren Schale kann zum Beispiel das entstandene Loch füllen und dabei ein Röntgenphoton emittieren. Dieser Prozess wird als Röntgenfluoreszenz bezeichnet. Eine andere Möglichkeit ist der strahlungsfreie Zerfall des ionisierten Atoms durch die Emission eines zweiten Elektrons, des sogenannten Augerelektrons. Diese beiden Möglichkeiten sind zusammen mit der Absorption der Röntgenstrahlung und der Emission des Photoelektrons in Schema 2 dargestellt.^[96,97]



Schema 2: Verlauf der Emission eines Photoelektrons und die daraufhin folgende Röntgenfluoreszenz oder die Emission eines Augerelektrons adaptiert von Haasch et al.^[96] und Giglio et al.^[97]

Für den in Schema 2 dargestellten Ablauf ergibt sich die kinetische Energie des Photoelektrons folgendermaßen.

$$KE = E_K - E_{L1} - E_{L3} - \phi_{\text{Spektrometer}} \quad (6)$$

Da bei der Emission der Photoelektronen ungepaarte Elektronen als Rumpfelektronen zurückbleiben, können diese unterschiedliche Wechselwirkungen von Spindrehimpuls und Bahndrehimpuls hervorrufen. Dieses Phänomen wird auch als Spin-Bahn-Kopplung bezeichnet und führt zur Aufspaltung der einzelnen Emissionslinien. Ein Elektron kann einen Spin von $+1/2$ oder $-1/2$ aufweisen. Der Bahndrehimpuls wird dabei durch die Nebenquantenzahl l gekennzeichnet. Der Gesamtbahndrehimpuls j ergibt sich aus $j = |l \pm s|$. Eine vollbesetzte Schale hat also keinen Einfluss auf den Gesamtbahndrehimpuls. Da bei der XP Spektroskopie ungepaarte Elektronen zurückbleiben, weist das Photoelektron abhängig von der Spin-Bahn-Kopplung eine andere kinetische Energie auf. Je nachdem, ob die Emission des Photoelektrons aus dem s, p, d oder f-Orbital erfolgt ist $l=0, 1, 2$ oder 3 . Bei einer Emission aus dem s-Orbital kann der Gesamtbahndrehimpuls nur $1/2$ betragen. Bei höheren Schalen kann der Gesamtbahndrehimpuls zwei Werte annehmen. Die p-, d- und f-Emissionslinien sind in ein Dublett aufgespalten. In Tabelle 2 wird dieser Sachverhalt verdeutlicht.^[96,97]

Tabelle 2: Aufspaltungparameter der Spin-Bahn-Kopplung und deren spektroskopische und X-ray Bezeichnung.^[97]

N	Quantenzahlen			Spektroskopische Bezeichnung	X-ray Bezeichnung
	l	S	$j = l + s$		
1	0	+1/2	1/2	1s	K
2	0	+1/2	1/2	2s	L1
2	1	-1/2	1/2	2p _{1/2}	L2
2	1	+1/2	3/2	2p _{3/2}	L3
3	0	+1/2	1/2	3s	M1
3	1	-1/2	1/2	3p _{1/2}	M2
3	1	+1/2	3/2	3p _{3/2}	M3
3	2	-1/2	3/2	3d _{3/2}	M4
3	2	+1/2	5/2	3d _{5/2}	M5
4	0	+1/2	1/2	4s	N1
4	1	-1/2	1/2	4p _{1/2}	N2
4	1	+1/2	3/2	4p _{3/2}	N3
4	2	-1/2	3/2	4d _{3/2}	N4
4	2	+1/2	5/2	4d _{5/2}	N5
4	3	-1/2	5/2	4f _{5/2}	N6
4	3	+1/2	7/2	4f _{7/2}	N7

2.4.5 Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD)

Bei der Röntgenpulverdiffraktometrie (engl. X-ray powder diffraction, XRD) erfolgt die Aufklärung der Kristallstruktur durch die Beugung von Röntgenstrahlen an Netzebenen in pulverisierten, kristallinen Feststoffen. Amorphe Substanzen können nicht mittels XRD untersucht werden und weisen eine diffuse Streuung auf, die im XR Diffraktogramm als breiter flacher Berg ersichtlich wird.

Die in dem Feststoffpulver enthaltenen Kristalle sind in verschiedene Richtungen orientiert. Bei der Bestrahlung der Probe mit monochromatischer Röntgenstrahlung, tritt für einige Kristalle gemäß der Bragg Gleichung (Gleichung 7) konstruktive Interferenz ein. Dabei wird die Probe unter einem bestimmten Einfallswinkel bestrahlt und der Winkel des

austretenden gebeugten Strahls gemessen. Da die Wellenlänge der eingestrahlten Röntgenstrahlung bekannt ist, kann der Winkel des gebeugten Strahls Aufschluss über die atomaren Netzebenenabstände liefern. Diese Netzebenenabstände sind für jede Substanz charakteristisch. Sie können nicht nur zur Identifizierung der elementaren Zusammensetzung des Materials verwendet werden, sondern geben auch Aufschluss über die Kristallphase.^[99,100]

$$n \cdot \lambda = 2d \cdot \sin\theta \quad (7)$$

n gibt die Beugungsordnung, λ die Wellenlänge der eingestrahlten Röntgenstrahlung, d den Netzebenenabstand und θ den Beugungswinkel an.

Durch XRD Messungen kann beispielsweise die stöchiometrische Zusammensetzung und somit die Kristallphase von CP bestimmt werden.^[99,101] Handelt es sich bei der jeweiligen Kristallphase um gut geordnete Kristalle, so weisen die Diffraktogramme scharfe Reflexe auf. Dies ist beispielsweise beim DCPD der Fall. Bei OCP oder HAP handelt es sich hingegen um schlechter geordnete Kristalle, wodurch es in diesen Fällen zur Linienverbreiterung der Reflexe kommt.

2.4.6 Elektronenmikroskopie

Elektronenmikroskope wurden entwickelt um eine höhere Vergrößerung als mit optischen Mikroskopen zu erreichen, deren Auflösungsvermögen durch die Wellenlänge des Lichts auf 0,2 μm begrenzt ist. Bei der Elektronenmikroskopie wird im Hochvakuum mittels einer Elektronenkanone ein Elektronenstrahl erzeugt. Die erzeugten Elektronen werden in Richtung der Probe beschleunigt und mit Hilfe von Metallblenden und elektromagnetischen Linsen fokussiert.^[102]

Eine Variante der Elektronenmikroskopie stellt die Rasterelektronenmikroskopie (engl. scanning electron microscopy, SEM) dar. Bei der Rasterelektronenmikroskopie wird als Elektronenquelle ein Filament aus Wolfram oder aus Lanthanhexaborid oder ein Schottky-Emitter eingesetzt. Der durch Anlegung einer Hochspannung generierte Elektronenstrahl besitzt eine Energie zwischen 0,2 und 40 keV, der mittels verschiedener elektromagnetischer Linsen in Verbindung mit zwei Blenden auf einen Strahldurchmesser von 0,2 bis 5 nm fokussiert wird. Die Probe wird anschließend mit dem primären Elektronenstrahl in einem

Raster abgetastet. Trifft der Elektronenstrahl auf die Probe, können von der Oberfläche der Probe drei Arten von Elektronen emittiert werden: Sekundärelektronen, Augerelektronen oder zurückgestreute Elektronen. All diese Signale können durch verschiedene Detektoren erfasst werden und zur Bilderzeugung genutzt werden.^[103,104]

Bei der Transmissionselektronenmikroskopie (engl. transmission electron microscopy, TEM) müssen geeignete dünne Proben verwendet werden, damit der Elektronenstrahl die Probe durchdringen kann. Dabei kann der Elektronenstrahl entweder durch die thermische Emission oder kalte Feldemission erzeugt werden. Bei der thermischen Emission erfolgt die Erzeugung des Elektronenstrahls durch Heizen der Kathode und bei der kalten Feldemission durch Anlegen eines elektrischen Feldes, wodurch die Elektronen aus der dünnen Kathodenspitze austreten. Die Kathode besteht aus Wolfram oder Lanthanhexaborid. Wird die Probe mit Elektronen bestrahlt, so wird an einigen Stellen der Elektronenstrahl unverändert die Probe passieren und an anderen Stellen wird der Elektronenstrahl beim Durchdringen der Probe gebeugt.

Bei der elastischen Streuung durchdringen die Elektronen des Elektronenstrahls die Elektronenwolken der Probenatome. Durch den positiv geladenen Atomkern werden diese Elektronen abgelenkt und ändern somit ihr Richtung. Je dichter die eingestrahlten Elektronen den Atomkern kommen, desto größer sind die Anziehungskräfte und umso größer ist der Streuwinkel.^[102,104,105]

Im TEM werden Hellfeld- und Dunkelfeldbilder unterschieden (siehe Abbildung 7). Beim Hellfeldbild wird der Primärstrahl zur Abbildung des Bildes verwendet. Dieser Primärstrahl wird beim Dunkelfeldbild durch eine Blende blockiert, wodurch zur Bilderzeugung gebeugte Strahlen verwendet werden. Aufgrund der stärkeren Wechselwirkungen des gebeugten Strahls mit der Probe, können im Dunkelfeldmodus Informationen zu planaren Defekten, Stapelfehlern oder Teilchengröße getroffen werden.^[102,104,105]

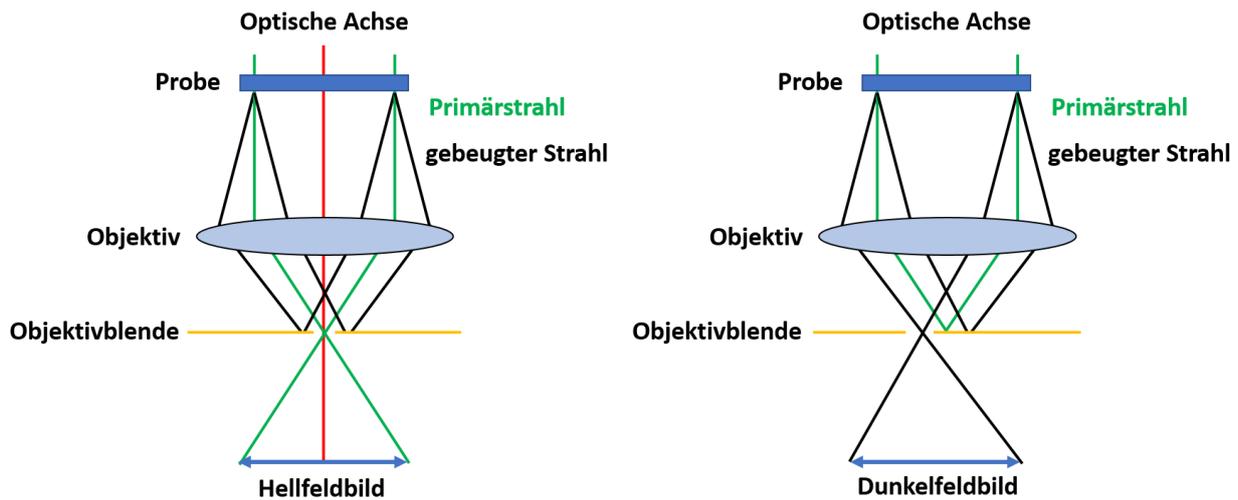


Abbildung 7: Unterschied der Bilderzeugung beim Hellfeldbild (links) und Dunkelfeldbild (rechts). Beim Hellfeldbild wird der Primärstrahl zur Bilderzeugung verwendet und beim Dunkelfeldbild ein gebeugter Strahl. Die Abbildung wurde adaptiert von Comparelli et al.^[102]

Bei der hochauflösenden Transmissionselektronenmikroskopie (engl. high-resolution transmission electron microscopy, HRTEM) handelt es sich um einen weiteren Abbildungsmodus des TEMs. Es ermöglicht die Abbildung der kristallografischen Struktur in atomarer Auflösung. Die Bildgebung in der HRTEM erfolgt in zwei Schritten. Zunächst wechselwirken die einfallenden Elektronen mit den Atomen der Probe. Diese Wechselwirkungen umfassen sowohl elastische als auch inelastische Streuprozesse. Beim HRTEM sind dabei die elastisch gestreuten Elektronen von Bedeutung.^[103] Die elastisch gestreute Elektronenwelle verlässt die Probe und interferiert mit der eingestrahlten Elektronenwelle. So können einzelne Atome, Kristalldefekte und verschiedene Kristalldomänen abgebildet werden. Der Vorteil beim TEM im Vergleich zum SEM ist, dass es aufgrund der dünnen Probe, die für Elektronen durchlässig ist, keine größeren Anregungsgebiete gebildet werden.^[102,103]

Die Rastertransmissionselektronenmikroskopie (STEM) ermöglicht es die lokale chemische Zusammensetzung und elektronische Struktur der zu untersuchenden Probe in atomarer Auflösung zu erfassen. Ähnlich zur konventionellen TEM erfolgt die Bilderzeugung im STEM durch die Transmission von Elektronen. Dabei wird die Probe wie beim SEM durch einen fokussierten Elektronenstrahl mittels einer sehr feinen Sonde zeilenweise in einem Raster abgescannt. Ein STEM besteht im Wesentlichen aus einer Elektronenquelle, verschiedenen Linsen, Ablenssystemen und Detektoren. Die Elektronenquelle ist für die

Erzeugung der Elektronen verantwortlich, die beim STEM durch die kalte Feldemission erfolgt. Diese Elektronen werden von den Linsen zu einer kleinen fokussiert und mit Hilfe verschiedener Ablensysteme zeilenweise über die Probe geführt. Beim Durchdringen der Elektronen durch die Probe kommt es an der jeweiligen Probenposition zu Wechselwirkungen zwischen den Elektronen und der Probe, wodurch einige Elektronen stärker gestreut werden als andere. Bei den STEM-Hellfeldbildern werden die nicht und wenig gestreuten Elektronen vom Detektor erfasst und nicht die stark gestreuten Elektronen. Bei den STEM-Dunkelfeldbildern werden hingegen die stark gestreuten Elektronen zur Bilderzeugung verwendet.^[102,106,107]

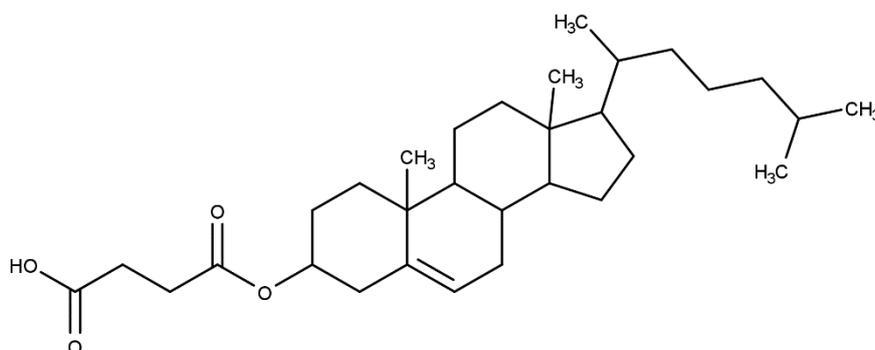
Die Elektronenbeugung beruht auf der elastischen Streuung von Elektronen durch die Atome eines Kristalls. Ein Kristall ist aus verschiedenen Netzebenen aufgebaut. Die einfallende Elektronenwelle wird an diesen Netzebenen reflektiert und die entstehenden Sekundärwellen können entweder konstruktiv oder destruktiv interferieren. Polykristalline Proben zeigen im Elektronenbeugungsbild konzentrische Ringe und einen hellen Punkt im Zentrum, der den ungebeugten Primärstrahl zugeordnet werden kann. Die unterschiedlichen Ringe können den unterschiedlichen Netzebenen des Kristalls zugeordnet werden. Im Fall eines Einkristalls besteht das Elektronenbeugungsmuster aufgrund der gleichen Orientierungsrichtung der einzelnen Kristalle aus Punkten. Das Elektronenbeugungsbild von amorphen Proben zeigt keine scharfen Beugungsmaxima, sondern nur ein Halo. Da die Wellenlänge der Elektronen bekannt ist, können durch die Auswertung der Ringradien die Netzebenenabstände mittels der Bragg Gleichung (Gleichung 7) berechnet werden. Jede Kristallphase weist unterschiedliche aufeinanderfolgende Netzebenenabstände auf, die durch die Kristallstruktur vorgegeben ist. Die Berechnung der Netzebenenabstände ermöglicht die Identifizierung der entsprechenden Kristallphase.^[102,104,107]

Die energiedispersive Röntgenspektroskopie (engl. energy dispersive X-ray spectroscopy, EDXS) kann beim SEM und TEM implementiert werden und beruht wie die XP Spektroskopie auf den äußeren Photoeffekt. Der große Unterschied dieser beiden besteht darin, dass die Probe beim XPS Röntgenstrahlen und bei der EDXS Elektronenstrahlen absorbiert. Die Folgeprozesse sind in beiden Methoden die gleichen. Da die Folgeprozesse schon ausführlich in Kapitel 2.4.4 für die XP Spektroskopie erklärt wurden, wird an dieser Stelle darauf verzichtet.^[102]

3. Grenzflächen-kontrollierte Mineralisation von CP durch Cholesterylhemisuccinat

Die nächsten Kapitel dieser Arbeit beschäftigen sich mit der Grenzflächen-kontrollierten Mineralisation von Calciumphosphat (CP). Dabei wurden zwei verschiedene Amphiphile für die Mineralisation eingesetzt. Die Amphiphile weisen den gleichen hydrophoben Block, aber eine unterschiedliche hydrophile Kopfgruppe auf.

Das erste untersuchte Amphiphil ist das Cholesterylhemisuccinat (CHOL-HEM), Schema 3. Dieses besteht aus einem Cholesterylrest als hydrophobem Block. Das CHOL-HEM entsteht durch die Veresterung des Bernsteinsäureanhydrids mit Cholesterol.



Schema 3: Struktur des Amphiphils CHOL-HEM. $M_w=486,73$ g/mol.

3.1 Ergebnisse

Bevor mit der Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche begonnen werden konnte, wurde zunächst das Phasenverhalten des Amphiphils analysiert. Dazu wurden π -A Isothermen an der Wasser/Luft-Grenzfläche bei verschiedenen Temperaturen, pH-Werten und Calciumkonzentrationen aufgenommen (Abbildung 8-11).

3.1.1 Phasenverhalten bei verschiedenen Temperaturen

Die π -A Isothermen bei den Temperaturen 10, 20 und 30 °C sind in Abbildung 8 zu finden. Wie zu erkennen ist, zeigt das Phasenverhalten des Amphiphils eine starke Temperaturabhängigkeit. Bei allen drei Temperaturen weist die Kurve keinen Wendepunkt, dafür aber einen Knickpunkt bei höheren Oberflächendrücken auf. Aufgrund dieser Tatsache

lässt sich vermuten, dass analog zu anderen Systemen, bereits bei einem Oberflächendruck von annähernd 0 mN/m eine kondensierte Phase mit einer ungeordneten Phase koexistiert.^[108–119]

Dieser Bereich ist durch ein Plateau gekennzeichnet, welches bei einer Fläche von 61 Å² beginnt. Eine Komprimierung der gasanalogen/flüssig-kondensierten Phase führt zu einer fortlaufenden Phasenumwandlung vom gasanalogen in den flüssig-kondensierten Zustand. Diese Umwandlung ist je nach Temperatur bei einer anderen Fläche beendet. Bei 10 °C bei einer Fläche von etwa 50 Å², bei 20 °C bei 51,5 Å² und bei 30 °C bei 51 Å². Der Unterschied in der Fläche ist nicht signifikant und ist kann demnach vernachlässigt werden. Sobald die Phasenumwandlung abgeschlossen ist, führt eine weitere Flächenverkleinerung zu einem starken Anstieg des Oberflächendrucks, der die flüssig-kondensierte Phase kennzeichnet.

Bei allen Temperaturen taucht mit weiterer Filmkomprimierung ein Knickpunkt in der Isotherme auf. Er kennzeichnet die Umwandlung von einer gekippten kondensierten Phase zu einer senkrechten Anordnung des hydrophoben Blocks bezüglich zur Wasseroberfläche.^[85,120] Der Oberflächendruck oberhalb des Knickpunktes zeigt einen stärkeren Anstieg als unterhalb des Knickpunktes. Der Film ist demnach im gekippten flüssig-kondensierten Zustand besser komprimierbar als im aufrecht flüssig-kondensierten Zustand. Der Grund dafür ist, dass bei der gekippten Anordnung die Verkleinerung der Fläche durch die Verkleinerung des Neigungswinkels erzielt werden kann. Bei der aufrechten Anordnung sind die Moleküle des hydrophoben Blocks bereits so dicht gepackt, dass der Abstand zwischen den einzelnen Molekülen die Flächendichte bestimmt und diese nicht mehr gut komprimiert werden können.^[85]

Der Knickpunkt ist mit steigender Temperatur zu kleineren Oberflächendrücken und größeren Flächen verschoben (Tabelle 3). Bei tieferen Temperaturen existiert die gekippte flüssig-kondensierte Phase länger und der Übergang zur aufrecht flüssig-kondensierten Phase erfolgt später. Die Fläche bleibt bei der Komprimierung der aufrecht flüssig-kondensierten Phase fast unverändert, bis es schließlich zum Filmkollaps kommt. Der Film kollabiert mit steigender Temperatur bei kleineren Oberflächendrücken und ist aufgrund dessen bei höheren Temperaturen weniger stabil. Der Filmkollaps bei 10 °C erfolgt bei einer Fläche von 33 Å² bei einem Oberflächendruck von 43 mN/m, bei 20 °C bereits bei 35 Å² und 40 mN/m und bei 30 °C bei 36 Å² und 38 mN/m.

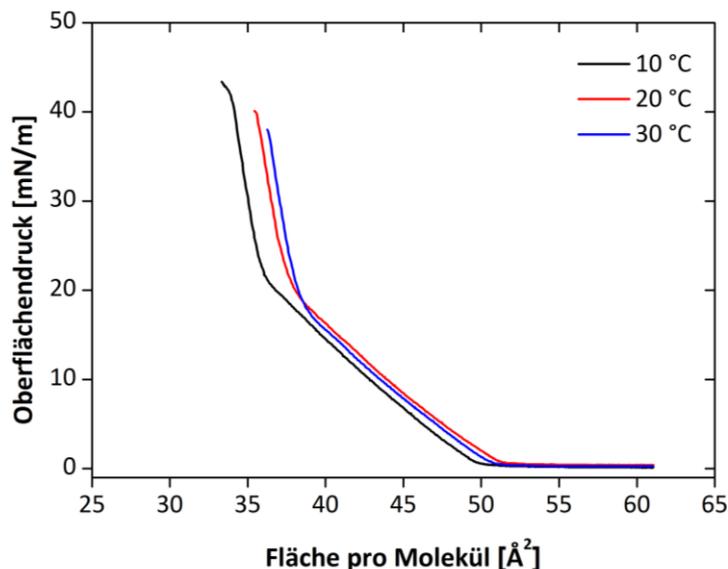


Abbildung 8: π -A Isothermen des Amphiphils CHOL-HEM bei verschiedenen Temperaturen auf Wasser.

Tabelle 3: Lage des Knickpunktes der die Umwandlung von der gekippten flüssig-kondensierten Phase in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase bei den Temperaturen 10, 20 und 30 °C kennzeichnet. Für jede Temperatur wurden zwei Isothermen aufgenommen. Diese Isothermen überlagern, sodass in diesem Fall kein Fehler berechnet werden konnte.

Temperatur [°C]	10	20	30
Fläche pro Molekül [Å ²]	36,5	38,1	39,0
Oberflächendruck [mN/m]	20,5	19,9	17,5

3.1.2 Phasenverhalten bei verschiedenen pH-Werten

Anders als bei verschiedenen Temperaturen scheint das Phasenverhalten des Amphiphils weniger stark vom pH-Wert der Subphase beeinflusst zu werden (Abbildung 9). Auch hier koexistieren eine gasanaloge und eine kondensierte flüssiganaloge Phase, gekennzeichnet durch das Plateau beginnend bei einer Fläche von 60 Å². Bei pH-Werten zwischen 5 und 9 liegen die Isothermen annähernd übereinander. Das Plateau bei Oberflächendrücken von annähernd 0 mN/m endet je nach pH-Wert bei unterschiedlichen Flächen. Bei pH-Werten unter 10 endet das Plateau bei einer durchschnittlichen Fläche von 50 Å² und bei einem pH-Wert von 10 bei einer Fläche von 49 Å². Wird der Film nun weiter komprimiert, steigt der Oberflächendruck für alle pH-Werte rapide an.

Bei einem Oberflächendruck um 18 mN/m (pH 10) beziehungsweise 19 mN/m (pH 5-9) weisen alle Isothermen einen Knickpunkt auf, der die Phasenumwandlung vom gekippten zur aufrecht flüssig-kondensierten Phase zeigt.^[108–119] Nach diesem Knickpunkt steigt die

Isotherme steiler an als zuvor, bis der Film kollabiert. Der Filmkollaps verschiebt sich mit steigendem pH-Wert minimal zu größeren Oberflächendrücken und erfolgt bei pH-Wert 5 bei ca. 43 mN/m und bei pH-Wert 10 erst bei 45 mN/m. Auf der reinen Wassersubphase kollabiert der Film bereits bei einem Oberflächendruck von 40 mN/m.

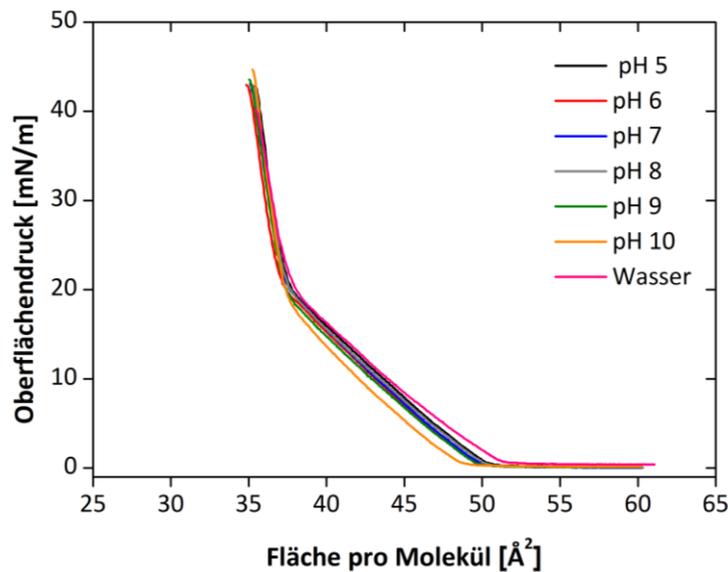


Abbildung 9: Phasenverhalten des Amphiphils CHOL-HEM bei verschiedenen pH-Werten bei 20 °C. Die pH-Werte der Subphase wurden mittels HCl und NaOH eingestellt.

3.1.3 Phasenverhalten auf Subphasen verschiedener Calciumkonzentrationen

In der Vergangenheit haben wir für Mineralisationsexperimente üblicherweise eine Calciumkonzentration von 2 mM verwendet.^[44,45,54] Bei dieser Konzentration wird nur wenig CP gebildet und die Analyse der Mineralisationsprodukte ist demnach schwierig. Aufgrund dessen wurden ebenfalls Calciumnitratlösungen mit einer Konzentration von 20 und 200 mM verwendet. Die Isothermen für die verschiedenen Konzentrationen bei 20 °C sind in Abbildung 10 gezeigt.

Der erste große Unterschied im Phasenverhalten des Amphiphils ist beim Vergleich zwischen Wasser und Calciumnitratlösung als Subphase ersichtlich. Alle Isothermen zeigen einen Phasenübergang vom gasanalogen in den flüssig-kondensierten Zustand, sichtbar durch das Plateau beginnend bei einer Fläche von ca. 60 Å².^[108–119] Mit steigender Konzentration dauert dieser Phasenübergang länger an und verschiebt sich zu kleineren Flächen. Auf einer Subphase aus reinem Wasser hält dieser Koexistenzbereich bis zu einer Fläche von ca. 51 Å² an. Bei einer Konzentration von 2 mM endet dieser bei 46 Å², bei 20 mM bei 45 Å² und bei 200 mM erst bei 44 Å².

Ist die Phasenumwandlung von der gasanalogen in die flüssig-kondensierte Phase abgeschlossen, steigt der Oberflächendruck mit weiterer Flächenverkleinerung stark an. Anschließend kommt es zu einer Ausbildung eines Knickpunktes, der wie bereits zuvor beschrieben, den Übergang von der gekippten flüssig-kondensierten Phase zur aufrecht flüssig-kondensierten Phase zeigt.^[108–119] Dieser Übergang verschiebt sich mit steigender Konzentration zu kleineren Oberflächendrücken. Sobald die dichteste Packung erreicht ist, kann eine weitere Kompression nur noch durch Aufrichten des hydrophoben Blocks von der gekippten zur aufrechten Anordnung erfolgen. Dies ist nur mit einem geringen Platzgewinn verbunden und somit steigt der Oberflächendruck ab diesem Punkt drastisch an, die Fläche hingegen bleibt annähernd konstant.^[121]

Der Kollapsdruck verschiebt sich mit steigender Konzentration zu größeren Oberflächendrücken und größeren Flächen. Bei einer Konzentration von 2 mM findet der Kollaps bei einer Fläche von etwa 34 \AA^2 und einem Oberflächendruck von 44 mN/m statt, bei 20 mM bei 34 \AA^2 und 45 mN/m und bei 200 mM bei 34 \AA^2 und 47 mN/m .

Der unterschiedliche Phasenverlauf des Amphiphils bei verschiedenen Konzentrationen ist für die nachfolgenden Mineralisationsexperimente nur von geringer Bedeutung. Diese werden bei einem Oberflächendruck von 30 mN/m durchgeführt. Bei diesem Oberflächendruck zeigen alle Isothermen den gleichen Kurvenverlauf und zudem liegt die Monolage hoch kondensiert vor.

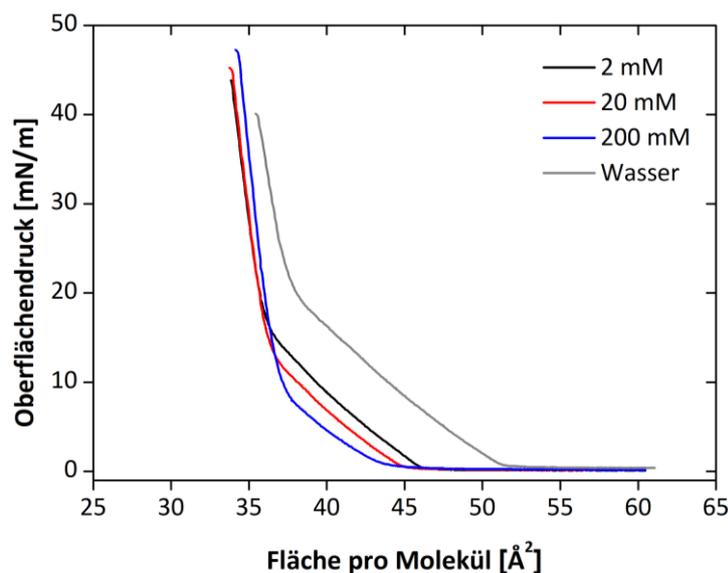


Abbildung 10: Phasenverhalten des Amphiphils CHOL-HEM auf verschiedenen Calciumkonzentrationen bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.1.4 Dynamik des Films (Filmstabilität)

Für die nachfolgenden Mineralisationsexperimente ist nicht nur das Phasenverhalten des Amphiphils bei den verschiedenen Reaktionsbedingungen von großer Bedeutung, sondern auch die Stabilität des monomolekularen Films. Um diese zu evaluieren, wurden drei aufeinanderfolgende Kompressions-/Expansionskurven bei 10 und 20 °C aufgenommen. Für beide Temperaturen wurden zwei verschiedene Kompressions-/Expansionszyklen aufgenommen. Diese erfolgten bei einem Oberflächendruck von 15 mN/m (gekippte flüssig-kondensierte Phase) und bei einem Oberflächendruck von 35 mN/m (aufrecht flüssig-kondensierte Phase) (siehe Abbildung 11). Unabhängig von der Subphasentemperatur ist eine starke Hysterese erkennbar. Zur Verdeutlichung wurden Hystereseindizes (HI_{1N}) berechnet ($HI_{1N} = (A_1 - A_N) / A_1$), wobei A_1 und A_N die durchschnittliche Fläche pro Cholesterylrest im ersten beziehungsweise im N-ten Kompressions-/Expansionszyklus darstellen.^[122]

Anhand der berechneten Hystereseindizes wird deutlich, dass sowohl bei einer Subphasentemperatur von 10 °C als auch 20 °C eine Expansion der gekippten flüssig-kondensierten Phase (unterhalb des Knickpunktes) zu kleineren Hysteresen führt. Die Hysteresen für die Expansion der aufrecht flüssig-kondensierten Phase (oberhalb des Knickpunktes) sind stärker ausgeprägt. Die Verschiebung zwischen dem ersten und dritten Kompressions-/Expansionszyklus (HI_{13}) ist für die Isothermen, die von 15 mN/m expandiert wurden, bei 10 °C etwa 1,8 und bei 20 °C etwa 1,7 mal kleiner, verglichen mit den Isothermen, die bei 35 mN/m expandiert wurden. Weiterhin ist ersichtlich, dass die Kompressions-/Expansionskurven bei 10 °C eine größere Hysterese aufweisen als die bei 20 °C. Die Kompressions-/Expansionszyklen sind bei 20 °C unterhalb und oberhalb des Knickpunktes etwa 1,6 mal kleiner, verglichen mit den Zyklen bei einer Subphasentemperatur von 10 °C.

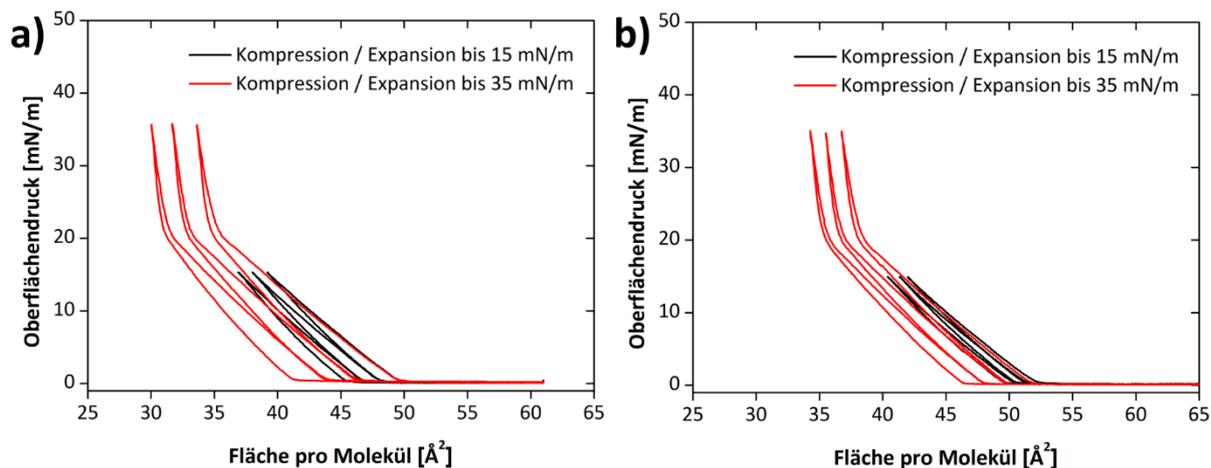


Abbildung 11: Expansions-/Kompressionskurven des CHOL-HEM auf Wasser bei (a) 10 °C und (b) 20 °C.

Tabelle 4: Hystereseeindizes des CHOL-HEM bei kontinuierlichen Kompressions-/Expansionsbedingungen bei einem maximalen Oberflächendruck von 15 mN/m (unterhalb des Knickpunktes) und 35 mN/m (oberhalb des Knickpunktes,) bei 10 und 20 °C. ($HI_{1N} = (A_1 - A_N)/A_1$), wobei A_1 und A_N die durchschnittliche Fläche pro Cholesterylrest des jeweiligen Kompressions-/Expansionszyklus darstellen.

T	π	1. Zyklus	2. Zyklus	3. Zyklus	Hystereseeindex	Hystereseeindex
[°C]	[mN/m]	A_1 [Å ²]	A_2 [Å ²]	A_3 [Å ²]	HI_{12}	HI_{13}
10	15	39,2	38,1	36,9	0,028	0,059
	35	33,6	31,7	30,0	0,057	0,107
20	15	42,0	41,4	40,4	0,014	0,038
	35	36,8	35,5	34,3	0,035	0,068

3.1.5. Mineralisation von Calciumphosphat

Nach Untersuchung des Phasenverhaltens des Amphiphils erfolgte die Mineralisation von CP unterhalb des monomolekularen Films.

Der Grundansatz ist der Gleiche wie bei den vorherigen Studien^[54]: das Amphiphil wurde aus Chloroform-Methanol gespreitet und nach 10 Minuten Äquilibrierungszeit wurde der Film bis zum erwünschten Mineralisationsdruck komprimiert. In dieser Studie wurde bei einem Oberflächendruck von 30 mN/m mineralisiert. Sobald der gewünschte Mineralisationsdruck erreicht wurde, erfolgte die Zugabe einer 3 M Diammoniumhydrogenphosphat-Lösung unter die Monolage. Die Mineralisation wurde analog zu früheren Studien bei 20 °C und einer Calciumkonzentration von 2 mM

durchgeführt.^[43,44,46,51,54] Die Mineralisationsbedingungen wurden diesmal auf Calciumkonzentrationen von 20 mM und 200 mM sowie auf Reaktionszeiten von 3, 4 und 5 h erweitert.

Abgesehen von den IRRAS Messungen wurden alle Mineralisationsexperimente an Trog **B** durchgeführt. Da es sich bei diesem Trog um einen Langmuir-Blodgett Trog handelt, konnte während der Mineralisation die Subphase mit einem kleinen Rührmagneten in der Dipper-Vertiefung gerührt werden.

Der pH-Wert der Subphase ist einer der Schlüsselparameter, um die Keimbildung und das Kristallwachstum von CP zu kontrollieren.^[8,22] Aus diesem Grund wurde zunächst der pH-Wert der Subphase während der Mineralisation überwacht (siehe Abbildung 12). Die Mineralisation erfolgte auf einer Subphase einer 2 oder 20 mM Calciumnitratlösung über 5 h.

Bei einer Calciumkonzentration von 2 mM liegt der pH-Wert der reinen Subphase vor Beginn der Mineralisation zwischen 5,6 und 6,1. Mit der Zugabe der Phosphatkomponente (pH 8,00) steigt der pH-Wert in den ersten 20 min bis auf einen pH-Wert von 7,8 an. Für alle Messungen findet dieser Anstieg zeitlich verzögert statt. Die Ursache dafür ist die Zugabe von lediglich 83,3 μ L 3 M Diammoniumhydrogenphosphatlösung (entspricht einer Gesamtkonzentration von 2 mM) unter die Barrieren. Die Injektion dieser Lösung kann nicht immer in der gleichen Entfernung zur pH-Elektrode erfolgen und zudem ist die Durchmischung der Subphase mittels des Rührmagneten nicht in jeder Messung gleich. Der pH-Wert steigt demnach in der einen Messung schneller an als in der anderen. Nach diesem Anstieg des pH-Wertes fällt der pH-Wert bis zu einer Mineralisationszeit von 120 min langsam auf 7,5. Innerhalb der nächsten 20 min findet ein steilerer pH-Wert Abfall auf einen pH-Wert von 7,3 statt. Bis zum Ende der Mineralisation nach 300 min sinkt der pH-Wert allmählich auf 7,0.

Der Verlauf des pH-Wertes bei einer Calciumkonzentration von 20 mM unterscheidet sich zum eben beschriebenen. Vor Beginn der Mineralisation liegt der pH-Wert zwischen 5,4 und 5,6 und steigt beim Mineralisationsstart innerhalb der ersten 10 min bis auf 6,5 an. Die nächsten 40 min erfolgt ein relativ starker Abfall des pH-Wertes auf 5,9, wobei in diesem Abfall zwei Stufen nach etwa 24 und 35 min zu erkennen sind. Für die restliche Mineralisationszeit findet lediglich ein minimaler Abfall des pH-Wertes auf 5,8 statt.

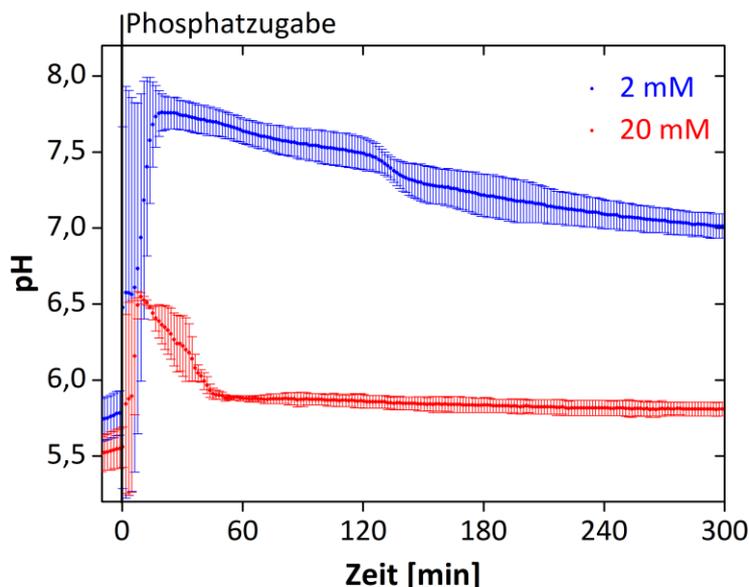


Abbildung 12: Verlauf des pH-Wertes während der Mineralisation von CP bei verschiedenen Calciumkonzentrationen (2 und 20 mM Calciumnitratlösung) über 5 h. Der Zeitpunkt „0“ kennzeichnet die Zugabe der Phosphatkomponente und den Start der Mineralisation. Die pH-Aufnahme erfolgte ca. 10 min vor dem Start der Mineralisation. Es wurden jeweils der Mittelwert und die Standardabweichung von drei Messungen berechnet. Es ist nur jeder 10. Datenpunkt dargestellt.

Um einen zeitlichen Überblick über den Verlauf der CP Mineralisation zu erhalten, wurden anschließend IRRAS Messungen durchgeführt. Diese Messungen erfolgten an Trog C. Im Vergleich zu Trog B besitzt dieser keine Dipper-Vertiefung, sodass das Rühren der Subphase während der Mineralisation nicht möglich war. Weiterhin unterscheiden sich die beiden Tröge in der Trogtiefe und dem Volumen/Oberflächen Verhältnis (siehe Experimententeil 8.2 für weitere Details). Demnach ist die Vergleichbarkeit mit den Mineralisationsexperimenten an Trog B nur bedingt möglich.

In Abbildung 13 sind IRRAS Spektren bei einer Calciumkonzentration von 2 mM und 20 mM über eine Mineralisationszeit von 5 h gezeigt. Die Messungen erfolgten mit s- und p-polarisiertem Licht. Die erste Messung mit s-polarisiertem Licht erfolgte nach 4 min und danach im Intervall von 12 min. Die erste Messung mit p-polarisiertem Licht erfolgte nach 9 min und dann ebenfalls im Abstand von 12 min. Alle Messungen mit s- und p-polarisiertem Licht liefern die gleichen Ergebnisse. Der einzige Unterschied liegt in dem schlechteren Signal-Rauschverhältnis der Messungen mit p-polarisiertem Licht. Deshalb sind im Folgenden nur die Spektren gezeigt, die mit s-polarisiertem Licht aufgenommen wurden.

Es ist deutlich zu erkennen, dass die Bande der P-O Streckschwingung bei 1018 cm^{-1} mit zunehmender Mineralisationszeit für beide Calciumkonzentrationen ansteigt (Abbildung

13). Für beide Calciumkonzentrationen wurde die Amplitude der Bande der P-O Streckschwingung bei einer Wellenzahl von 1018 cm^{-1} bei verschiedenen Mineralisationszeiten ermittelt und gegen die Mineralisationszeit aufgetragen (Abbildung 13).

Bei einer Calciumkonzentration von 2 mM steigt die Bande der P-O Streckschwingung das erste Mal nach 148 min an. Bis zu einer Mineralisationszeit von 172 min bleibt die Amplitude annähernd konstant und steigt dann zwischen 184 und 302 min stetig an. Ein weiterer Anstieg der Bande der P-O Streckschwingung nach 5 h ist nicht auszuschließen.

Bei einer Calciumkonzentration von 20 mM kann die erste auswertbare Bande der P-O Streckschwingung nach einer Mineralisationszeit von 40 min beobachtet werden. Diese nimmt innerhalb der nächsten 24 min nur leicht an Intensität zu. Danach steigt sie bis zu einer Reaktionszeit von 76 min ein wenig stärker an. Der größte Anstieg kann anschließend zwischen 76 und 88 min beobachtet werden und ein weiterer starker Anstieg zwischen 88 und 100 min. Daraufhin nimmt die Amplitude der Bande der P-O Streckschwingung bis zu einer Reaktionszeit von 136 min weniger steil zu. Innerhalb der nächsten 84 min findet ein sehr langsamer Anstieg statt, der dann zwischen 220 und 304 min keine deutliche Veränderung mehr zeigt.

Nach einer Mineralisationszeit von 88 min ist zusätzlich zur Bande bei 1018 cm^{-1} je eine Bande bei 1126 cm^{-1} und bei 960 cm^{-1} zu erkennen. Diese zusätzlichen Banden tauchen zum ersten Mal bei dem Spektrum mit dem größten Intensitätsanstieg der Bande der P-O Streckschwingung auf. Die Bande bei 1126 cm^{-1} kann der dreifach entarteten antisymmetrischen ν_3 (O-P-O) Streckschwingung in PO_4^{3-} und die Bande bei 960 cm^{-1} der symmetrischen ν_1 (O-P-O) Streckschwingung in PO_4^{3-} zugeordnet werden.^[123,124]

Es ist anzumerken, dass die IRRAS Spektren nur einen kleinen Bereich des Troges während der Mineralisation zeigen. Die Mineralisation läuft aber nicht homogen ab, sodass es partielle Unterschiede je nach Ort gibt. Diese Messungen dienen damit nur als grober Überblick. Nichtsdestotrotz zeigen sie, dass im Laufe der Mineralisation bei beiden Calciumkonzentration die Intensität der Bande der P-O Streckschwingung steigt und eine zunehmende Mineralisation von CP zu erwarten ist.

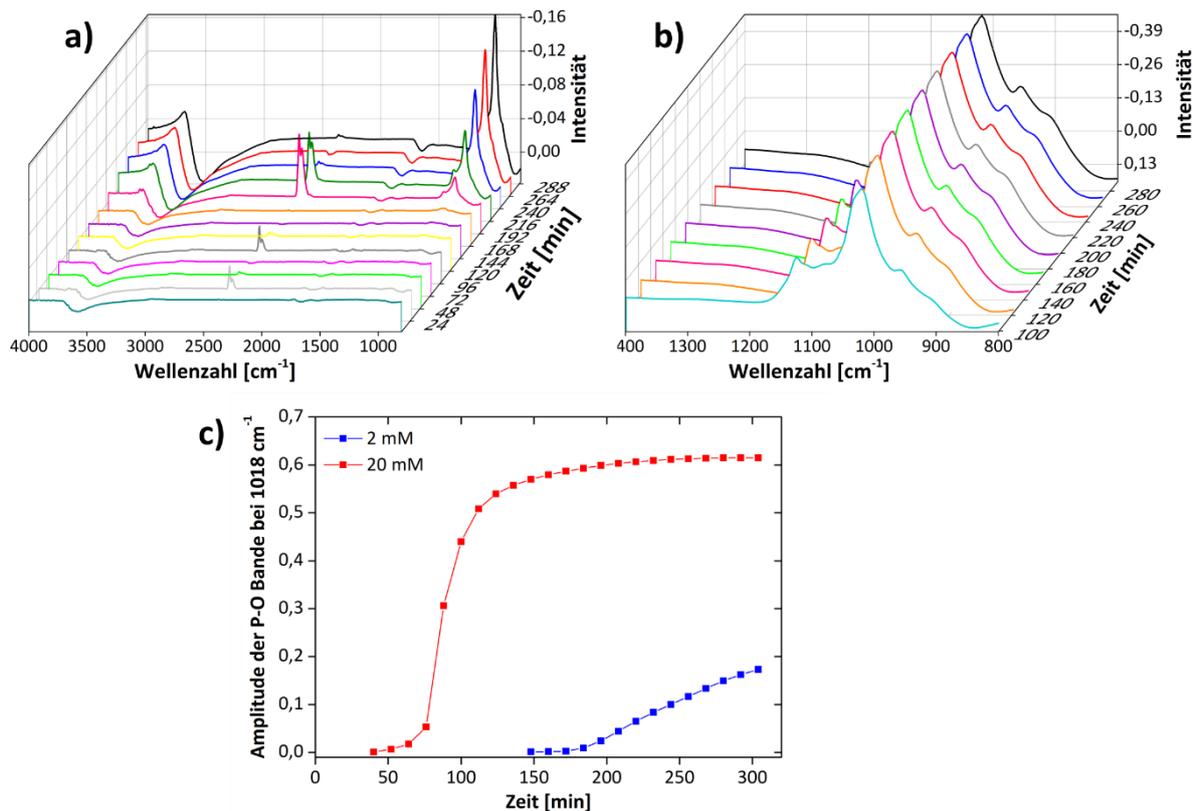


Abbildung 13: IRRA Spektren für die Mineralisation von CP bei (a) einer Calciumkonzentration von 2 mM und (b) bei einer Calciumkonzentration von 20 mM (b). Bei (b) ist nur der Bereich zwischen 800 und 1400 cm^{-1} gezeigt, um den Anstieg der Bande der P-O Streckschwingung deutlich zu machen. In (c) ist die Amplitude der Bande der P-O Streckschwingung gegen die Mineralisationszeit bei einer Calciumkonzentration von 2 und 20 mM dargestellt.

Die mineralisierten Filme wurden je nach Reaktionsbedingungen nach 3, 4 und 5 h auf Si-Wafer und TEM-Grids übertragen. Der Übertrag auf die Si-Wafer erfolgte per Hand mittels Langmuir-Schäfer Transfer. Die Wafer wurden anschließend für die folgenden Rasterkraftmikroskopie (engl. atomic force microscopy, AFM) und Röntgenphotoelektronenspektroskopie (engl. X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) Messungen verwendet. Der Filmübertrag gestaltete sich schwierig und gelang nicht für alle Proben gleich gut.

Es ließ sich feststellen, dass die Mineralisation für die Proben mineralisiert bei einer Konzentration von 2 mM besser verlief. Bei einer Konzentration von 2 mM waren die gut mineralisierten Stellen erkennbar (der Film warf an einigen Stellen Fältchen und reflektierte das Licht anders). Bei einer Konzentration von 20 mM war ein solcher Effekt leider nicht erkennbar. Das ist wahrscheinlich auf den niedrigeren pH-Wert, die bessere Löslichkeit des Calciumphosphates und die damit verbundene schlechtere Mineralisation von CP

zurückzuführen. Demnach gestaltete sich der Filmübertrag bei einer Konzentration von 20 mM schwieriger.

Bei einer Konzentration von 2 mM befand sich nach dem Übertrag mehr Material auf den Si-Wafern. Diese Beobachtung spiegelt sich auch in den Ergebnissen der AFM und XPS Messungen wieder.

Die AFM Bilder sind in Abbildung 14 gezeigt. Die bei einer Konzentration von 2 mM gebildeten Minerale unterscheiden sich deutlich von denen gebildet bei einer Konzentration 20 mM. Bei einer Konzentration von 2 mM und einer Mineralisationszeit von 4 h sind mehrere Gebilde, die aus gefalteten dünnen Schichten bestehen, zu erkennen. Die bei der gleichen Konzentration synthetisierten Minerale bei einer Mineralisationszeit von 3 und 5 h zeigen die gleiche Morphologie. Die gefalteten dünnen Schichten sind diesmal viel dichter mineralisiert und bilden eine Art mineralisierten „Teppich“. Die Oberflächenrauigkeit ist nach 5 h am geringsten und nach 4 h am größten. Die rms Rauigkeit beträgt nach 3 h rund 69 nm, nach 4 h ca. 113 nm und nach 5 h etwa 32 nm.

Der Unterschied zwischen den einzelnen Reaktionszeiten wird vermutlich durch den Filmübertrag hervorgerufen. Die Si-Wafer besitzen lediglich eine Größe von $1 \times 1 \text{ cm}^2$. Da die Mineralisation unterhalb der Monolage nicht homogen erfolgt, ist zusätzlich die Position für den Übertrag entscheidend. So mineralisiert an der einen Stelle mehr CP als an der anderen Stelle. Zusätzlich erfolgte der Filmübertrag auf die Si-Wafer nicht immer gleich gut. Die Unterschiede in den AFM Bildern nach 4 h können also mehrere Ursachen haben. Nichtsdestotrotz wird die in den AFM Bildern beobachtete Morphologie durch die STEM Aufnahmen unterstützt (Abbildung 15).

Die AFM Aufnahmen der Proben mineralisiert bei einer Calciumkonzentration von 20 mM zeigen lediglich kleine Partikel. Die Partikel isoliert nach einer Mineralisationszeit von 4 h sind deutlich kleiner als nach 3 h und nach 5 h sind sowohl große als auch kleine Partikel zu sehen. Da diese Aufnahmen sich deutlich von den STEM Aufnahmen unterscheiden, wäre es denkbar, dass der Filmübertrag für diese Proben nicht funktioniert hat. Die Partikel können beispielsweise durch die Trocknung und durch die Auskristallisation der Salze in der Subphase entstehen. Aufgrund dessen wurden für diese Proben keine Oberflächenrauigkeiten berechnet.

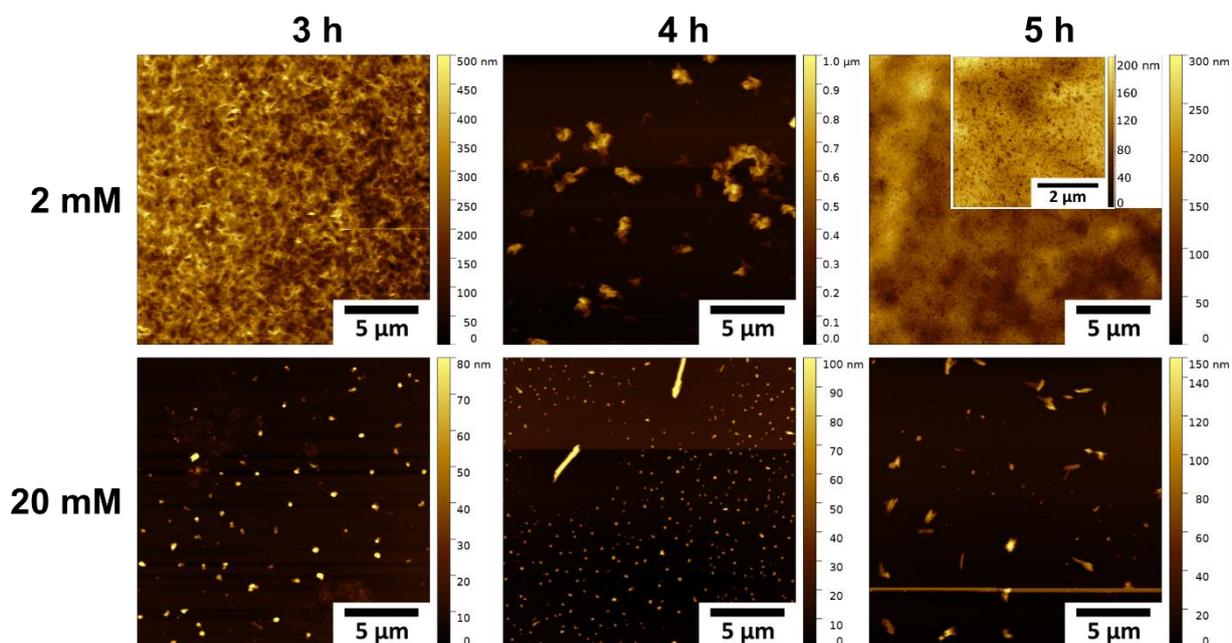


Abbildung 14: AFM Bilder der mineralisierten Filme für Calciumkonzentrationen von 2 und 20 mM für eine Mineralisationszeit von 3, 4 und 5 h.

Die STEM Bilder zeigen für die Proben mineralisiert bei Calciumkonzentrationen von 2 und 20 mM über jeweils 3 und 5 h, bis auf die Probe bei 20 mM über 5 h, die gleiche Morphologie (Abbildung 15). Wie schon zuvor beschrieben, gab es speziell bei den Proben mineralisiert bei einer Konzentration von 20 mM, Probleme beim Probenübertrag. Die nachfolgenden Analysemethoden bestätigten dies für den Filmübertrag der Probe mineralisiert bei einer Konzentration von 20 mM über 5 h. Deswegen wird diese Probe in den folgenden Messungen nicht weiter beachtet.

Alle anderen Proben zeigen analog zu den AFM Bildern dünne, gefaltete Schichten, die zu einer Art „Teppich“ mineralisiert sind. Die Proben mineralisiert bei einer Calciumkonzentration von 2 mM zeigen andere Größenordnungen, so dass die Probe nach 3 h aus kleineren gefalteten Schichten zusammengesetzt ist, verglichen mit der Probe nach 5 h. Bei höheren Calciumkonzentration von 20 mM und einer Mineralisationszeit von 3 h sind leichte Unterschiede zu sehen und die Schichten scheinen viel stärker miteinander verwachsen zu sein.

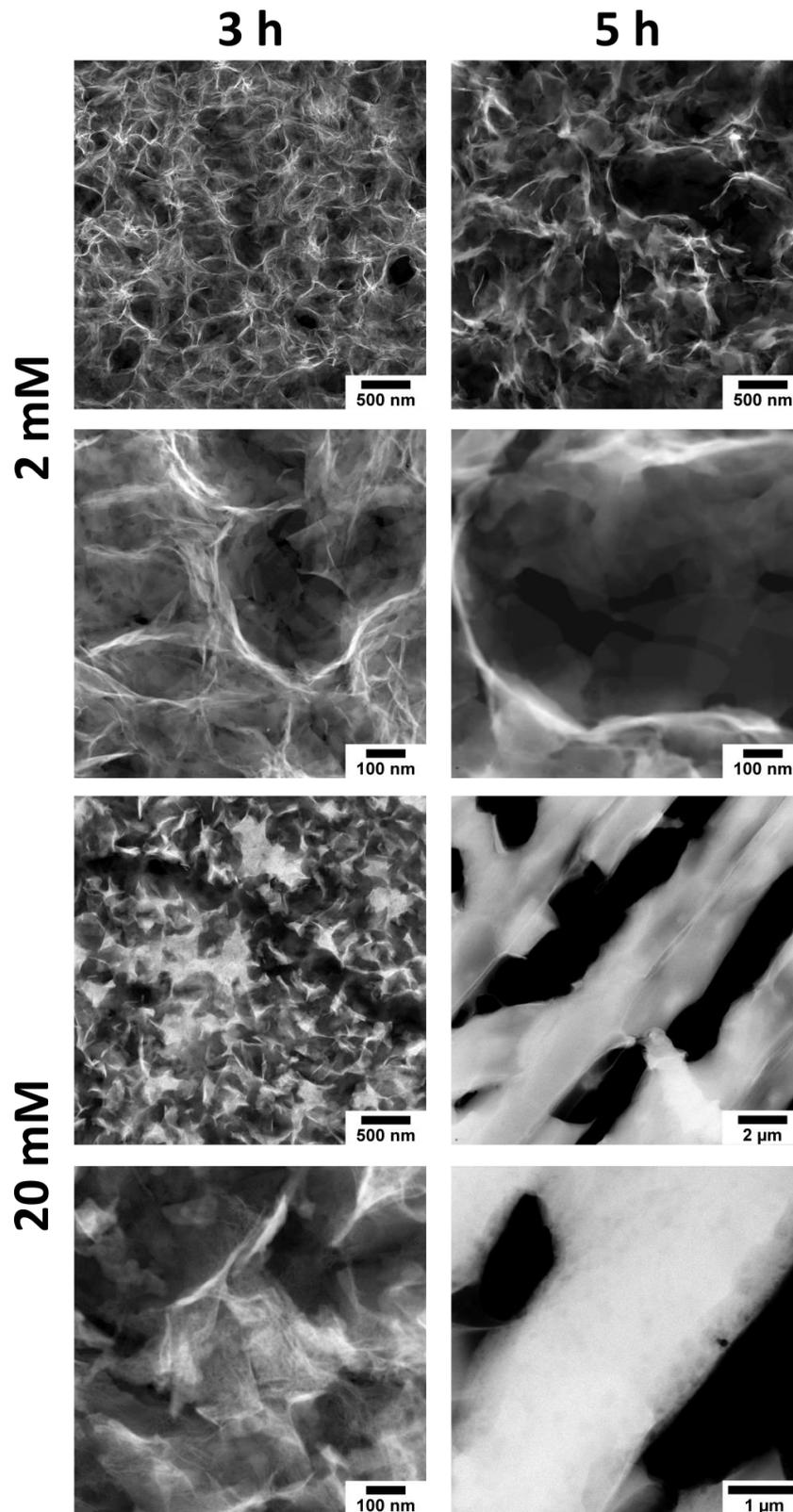


Abbildung 15: STEM Bilder der Proben mineralisiert bei Calciumkonzentrationen von 2 und 20 mM über 3 und 5 h. Die Proben mineralisiert bei 2 mM für 3 und 5 h und die Probe mineralisiert bei 20 mM über 3 h sind in den gleichen Vergrößerungen dargestellt. Bei der Probe mineralisiert bei 20 mM über 5 h sind andere Vergrößerungen gezeigt. Des Weiteren gab es bei dieser Probe Probleme beim Probenübertrag auf die TEM Grids, sodass diese keine brauchbaren Ergebnisse lieferte.

Abbildung 16 zeigt die mittels Elektronenbeugung (engl. selected area electron diffraction, SAED), hochauflösender Transmissionselektronenmikroskopie (eng. high resolution transmission electron microscopy, HRTEM) und Hellfeld Transmissionselektronenmikroskopie erhaltenen Ergebnisse. Diese sind exemplarisch für die Probe mineralisiert bei einer Calciumkonzentration von 2 mM über 5 h gezeigt. Die Proben mineralisiert bei 2 mM über 3 h und bei 20 mM über 3 h zeigen prinzipiell die gleichen Ergebnisse. Das Elektronenbeugungsbild der dünnen, gefalteten Schichten in Abbildung 15b zeigt die stärksten Reflexe bei Netzebenenabständen (d-Abständen) von 3,91; 3,43; 2,84; 2,33; 2,24; 2,06; 1,05 und 1,72 Å². Diese Reflexe stimmen am besten mit Octacalciumphosphat (OCP, ICSD 27050) in der [110] Orientierung überein.

Diese Ergebnisse stimmen gut mit den Beobachtungen aus den Hellfeld TEM Messungen überein. Dabei kann an vielen Stellen vertikal auf dem Trägerfilm stehende Platten mit 2-6 Gitternetzlinien mit d-Abständen zwischen 1,7-1,8 nm beobachtet werden. Diese können der {100} Gitterebene in OCP zugeordnet werden.

Die Auswertung der HRTEM Bilder gestaltete sich deutlich schwieriger als die Auswertung der Elektronenbeugungsbilder. Die HRTEM Aufnahmen zeigen, dass die meisten Kristalle in der gleichen kristallographischen Orientierung vorliegen, diese jedoch nicht perfekt geordnet und in der Ebenen gegeneinander verdreht sind. Die besser geordneten Kristalle weisen dabei deutlich größere und intensivere Reflexe auf. Durch das Zeichnen zweier Geraden durch zwei zusammengehörige Reflexe zweier verschiedener Kristalle, konnte ein Verdrehungswinkel um die 9° ausgemessen werden.

Dabei muss beachtet werden, dass im HRTEM kleinere Flächen als in der Elektronenbeugung betrachtet werden. In unserem Fall betrug die Fläche, die im HRTEM untersucht wurde, um die 500 nm², wohingegen die Fläche bei der Elektronenbeugung um einiges höher ist. Mittels HRTEM kann also die lokale Ordnung beobachtet werden, wohingegen im SAED eine gemittelte Ordnung über einen größeren Bereich betrachtet wird.

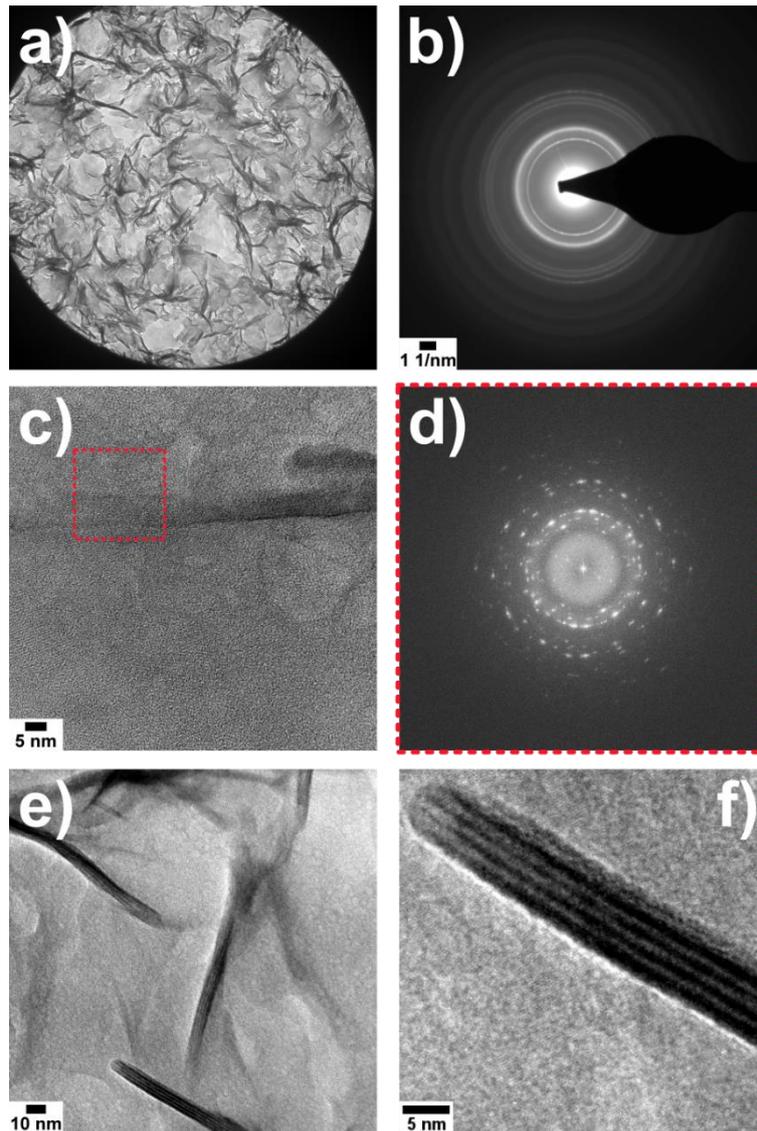


Abbildung 16: (a) Defokussierter Bereich und (b) dazugehöriges Elektronenbeugungsbild. (c) HRTEM Bild und (d) das dazugehörige Fouriertransformations- (FT) Bild. Das rote Quadrat kennzeichnet den Bereich, in dem die FT durchgeführt wurde. (e) Hellfeld TEM Bilder und (f) die vergrößerte Ansicht für senkrecht stehende OCP Platten. Alle Messungen wurden für die Probe mineralisiert über 5 h bei einer Calciumkonzentration von 2 mM durchgeführt.

Die Ergebnisse der XPS, SAED und HRTEM werden zusätzlich von den EDXS Messungen bestätigt (Abbildung 17). Die Proben mineralisiert bei einer Calciumkonzentration von 2 mM über 3 und 5 h sowie bei 20 mM über 3h, ergaben ein durchschnittliches Ca/P Verhältnis zwischen 1,31 und 1,36.

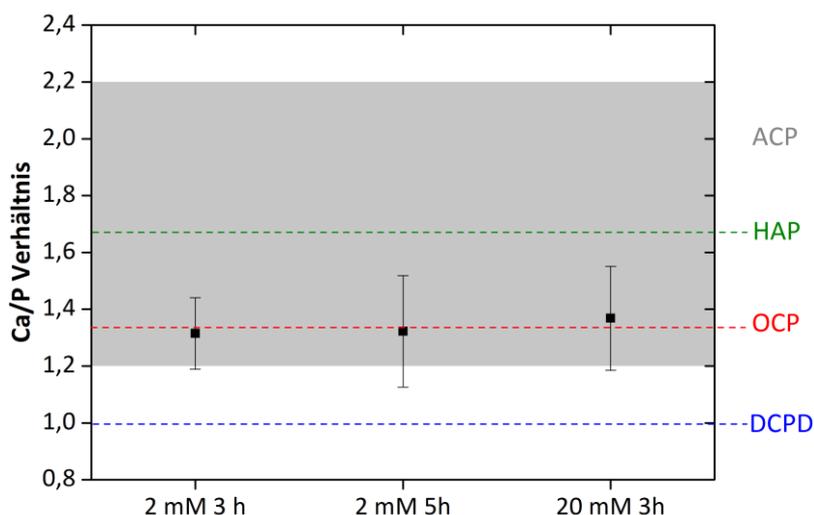


Abbildung 17: Durchschnittliche Ca/P Verhältnisse mit Standardabweichungen für mehrere EDXS Messungen von Proben mineralisiert bei einer Calciumkonzentration von 2 mM über 3 h (3 Messungen) und 5 h (5 Messungen), sowie bei einer Calciumkonzentration von 20 mM über 3 h (6 Messungen). Die Probe mineralisiert bei 20 mM über 5 h lieferte keine auswertbaren EDXS Spektren. Die farbigen Linien und die schattierte Fläche repräsentieren die Ca/P Verhältnisse aus der Literatur für HAP, OCP, DCPD und ACP.^[125]

Die Ergebnisse der EDX Messungen werden durch die XPS bestätigt (Abbildung 18). Es sind exemplarisch die Ca 2p und P 2p XP Spektren für die Proben, mineralisiert bei einer Calciumkonzentration von 2 und 20 mM über jeweils 5 h, gezeigt. Anhand dieser Spektren wird wiederum sichtbar, dass der Filmübertrag bei der kleineren Konzentration deutlich besser verlief und mehr Material zur Verfügung stand. Die XP Spektren von der bei 20 mM mineralisierten Probe zeigen aufgrund der geringen Konzentration ein schlechteres Signal-Rausch-Verhältnis. Für diese Probe kann lediglich Calcium quantifiziert werden, da der Phosphorgehalt unter der XPS-Nachweisgrenze liegt und dieser Energiebereich zusätzlich von dem intensiven Plasmon-Verlustpeak von metallischen Si überlagert wird. Die Bindungsenergien und die dazugehörigen Atomkonzentrationen sind Tabelle 10 im Anhang zu entnehmen.

Die Bindungsenergien für die Proben mineralisiert bei 2 mM werden für Ca 2p_{3/2} bei 347,4 eV und für P 2p_{3/2} bei 133,1 eV gefunden. Diese Werte stimmen gut mit den Literaturwerten überein und belegen die Anwesenheit von Calciumphosphat.^[126]

Die P 2p Peaks für die Proben, mineralisiert bei einer Konzentration von 20 mM, sind sehr schwach und werden vom starken Si Plasmon des Substrates (Si-Wafer) überdeckt. Der ungestörte Ca 2p Peak, selbst für die Proben, die bei 20 mM mineralisiert wurden, weist nichtsdestotrotz auf die erfolgreiche Mineralisation von CP hin.

In der C 1s Region konnten vier Komponenten bei 285,0 eV (C-H), 286,5 eV (C-O), 287,6 eV (C=O) und bei 289,0 eV (COO) gefunden werden, die auf das Amphiphil zurückgeführt werden können.^[127] Anhand der Atomkonzentrationen lässt sich für die bei 2 mM mineralisierten Filme ein Ca/P-Verhältnis von 1,32 berechnen (Tabelle 10 im Anhang).

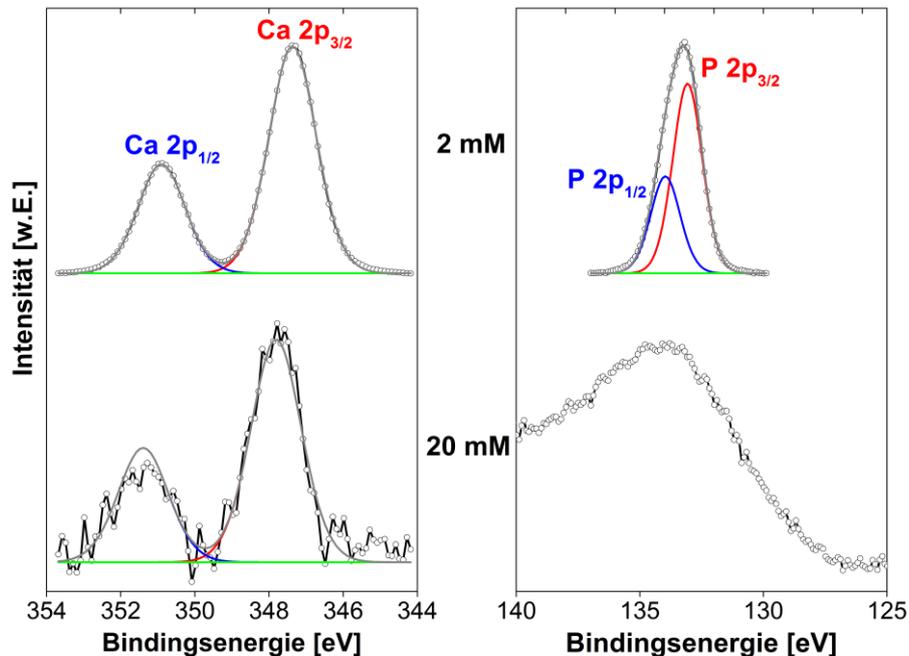


Abbildung 18: Ca 2p (links) und P 2p XP Spektren (rechts) von Oberflächenfilmen, die bei einer Calciumkonzentration von 2 mM (oben) und 20 mM (unten) mineralisiert wurden.

3.2 Diskussion

Das verwendete Amphiphil bildet einen stabilen monomolekularen Film an der Wasser/Luft-Grenzfläche in den gemessenen Temperatur- und pH-Bereichen sowie auf Subphasen mit verschiedenen Calciumkonzentrationen (siehe Abbildung 8-11).

3.2.1 Temperatureinfluss auf das Phasenverhalten

Das Phasenverhalten des Amphiphils bei unterschiedlichen Temperaturen zeigt grundsätzlich den gleichen Phasenverlauf. Die schwache Temperaturabhängigkeit und das Fehlen eines Wendepunkts sind ein Indiz dafür, dass bereits nach dem Spreiten eine flüssig-kondensierte Phase vorliegt. Diese flüssig-kondensierte Phase liegt zusammen mit einer gasanalogen Phase vor. In dem von uns untersuchten Temperaturbereich ist ein solcher

Kurvenverlauf nicht außergewöhnlich und wurde schon des Öfteren bei Amphiphilen beobachtet.^[108–119,128]

Ein Koexistenzbereich von gasanaloger und flüssig-kondensierter Phase wurde auch von Vollhardt et al. beobachtet.^[108,111] Sie untersuchten das Phasenverhalten von 1-Monostearoyl-rac-glycerol Monolagen mittels Brewsterwinkelmikroskopie (BAM) und Röntgendiffraktometrie unter streifendem Einfall (engl. grazing incidence X-ray diffraction, GIXD) bei verschiedenen Temperaturen. BAM Aufnahmen zeigen, dass bei 23 °C und einem Oberflächendruck von annähernd 0 mN/m bereits flüssig-kondensierte Domänen neben einer gasanalogen Phase existieren. Eine Erhöhung der Temperatur auf 35 °C führt zur Auflösung dieser Domänen. Die Abkühlung des Systems führt zu einer erneuten Ausbildung kondensierter Domänen ab einer Temperatur von 27 °C. Anhand dessen schlussfolgerten sie, dass es sich bei dem Koexistenzbereich von flüssig-kondensierter und gasanaloger Phase um einen Gleichgewichtszustand der Monolage handelt. Dieses Phasenverhalten konnte bei Temperaturen ≤ 30 °C beobachtet werden. Bei Temperaturen über 30 °C zeigen alle Isothermen ein Plateau, welches einen Phasenübergang erster Ordnung von der gasanalogen Phase in die flüssig-kondensierte Phase beschreibt. Zusätzlich weisen alle Isothermen von Vollhardt et al. unabhängig von der Temperatur einen Knickpunkt auf. BAM Aufnahmen zeigen, dass unterhalb des Knickpunktes Hohlräume zwischen den einzelnen kondensierten Domänen existieren. Diese Hohlräume verschwinden bei weiterer Komprimierung allmählich und es kommt zur Deformation der kondensierten Domänen.^[108,111]

Der auftretende Knickpunkt in den Isothermen in den Studien von Vollhardt et al.^[108,111] wird durch Inselbildung direkt nach dem Spreiten hervorgerufen. Dabei liegen die Moleküle von vornherein in einer aufrecht flüssig-kondensierten Phase vor. Durch die Bildung kleiner Inseln kommt es zwischen diesen zur Ausbildung von sogenannten Fehlstellen. Wird der Film nun komprimiert, verschwinden diese Fehlstellen und der Oberflächendruck steigt an. Sobald alle Fehlstellen beseitigt sind, sinkt die Kompressibilität des Films. Dieser Punkt wird anhand des Knickpunktes in der Isothermen sichtbar und ist gefolgt von einem drastischen Anstieg des Oberflächendrucks bei annähernd gleichbleibender Fläche.

Es wäre demnach denkbar, dass der Knickpunkt in unseren Isothermen auch durch eine solche Inselbildung hervorgerufen wird und nicht den Phasenübergang von der gekippten in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase zeigt. BAM Messungen vom CHOL-HEM zeigen allerdings keinerlei Kontrastunterschiede mit zunehmender Filmkomprimierung. Eine Ursache

dafür kann der Brechungsindex des Amphiphils sein. Dieser liegt wahrscheinlich sehr dicht an dem Brechungsindex von Wasser (1,33), wodurch keine Kontrastunterschiede beobachtbar sind.

Zur weiteren Aufklärung der Ursache des Knickpunktes wurden IRRAS Messungen des Amphiphils auf Wasser bei 20 °C durchgeführt (Spektren nicht gezeigt). Die IRRAS Spektren zeigen sowohl für s-polarisiertes als auch p-polarisiertes Licht eine Bande bei 1724 cm^{-1} , die der C=O-Valenzschwingung des Esters zugeordnet werden kann. Außerdem ist eine Bande bei 1585 cm^{-1} zu erkennen, die der C=C-Streckschwingung zuzuschreiben ist. Die Banden zwischen 2360-2340 cm^{-1} werden durch CO_2 Fluktuationen während der Messungen hervorgerufen und können ignoriert werden.^[129]

Weiterhin befinden sich zwei schwache Banden bei einer Wellenzahl von 2938 und 2850 cm^{-1} . Die Banden können der antisymmetrischen und symmetrischen CH_2 -Streckschwingung zugeordnet werden, wobei die Wellenzahl für die antisymmetrische CH_2 -Streckschwingung ein wenig hoch ist und normalerweise bei Wellenzahlen um die 2926 cm^{-1} für ungeordnete und 2920 cm^{-1} für geordnete Systeme zu finden ist. Würde der hydrophobe Block lediglich aus aliphatischen CH_2 -Ketten bestehen, könnte die Auswertung dieser beiden Banden Aufschluss über die bei verschiedenen Oberflächendrücken vorliegende Phase (gekippt oder aufrecht flüssig-kondensiert) geben. Der hydrophobe Block des CHOL-HEM ist deutlich komplexer aufgebaut und besitzt nur eine kurze CH_2 -Kette. Eine Auswertung dieser beiden Banden ist demnach aufgrund der geringen Intensitäten schwierig. Es konnte also keine Verschiebung der beiden Banden von einem ungeordneten System (symmetrische CH_2 -Streckschwingung bei 2854 cm^{-1} und asymmetrische bei 2924 cm^{-1}) zu einem geordneten System (symmetrische CH_2 -Streckschwingung bei 2849 cm^{-1} und asymmetrische bei 2916 cm^{-1}) beobachtet werden.^[130]

Die Bande der OH-Streckschwingung bei Wellenzahlen zwischen 3000-3700 cm^{-1} ist proportional zur Dicke des Films. Die Auswertung der Amplitude dieser Bande bei verschiedenen Oberflächendrücken gibt Aufschluss über die Schichtdicke bei den jeweiligen Oberflächendrücken. Eine Auftragung der Amplitude gegen den Oberflächendruck ist in Abbildung 19 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die Amplitude der OH-Streckschwingung bis zu einem Oberflächendruck von 20 mN/m stetig zunimmt und anschließend annähernd konstant bleibt.

Diese Daten bestätigen die Vermutung, dass es sich beim Knickpunkt um eine Phasenumwandlung von der gekippten in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase handelt und nicht durch Inselbildung direkt nach dem Spreiten hervorgerufen wird. Unterhalb des Knickpunktes nimmt die Filmdicke zu, da sich der gekippte hydrophobe Block der einzelnen Amphiphilmoleküle mit fortlaufender Komprimierung immer mehr aufrichtet. Wurde der Knickpunkt erreicht, befinden sich alle hydrophoben Blöcke der einzelnen Moleküle in der aufrechten Konformation und die Filmdicke bleibt demnach unverändert.

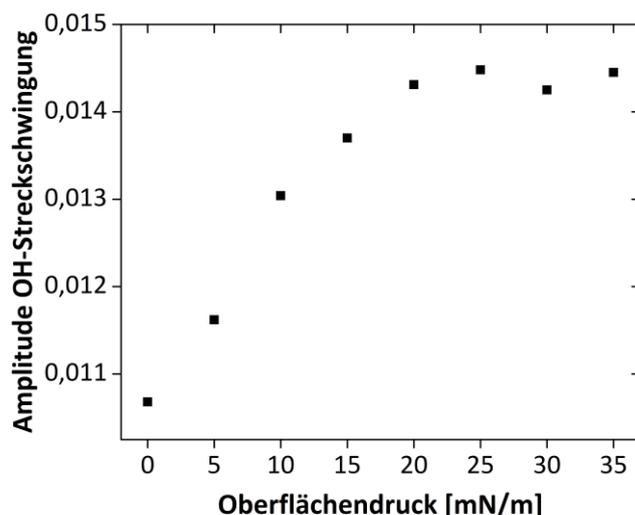


Abbildung 19: Mittels IRRAS Spektren erhaltene Amplitude der OH-Streckschwingung zwischen 3000-3700 cm^{-1} gegen den entsprechenden Oberflächendruck.

Eine Phasenumwandlung von der gekippten in die aufrechte flüssig-kondensierte Phase konnte bereits in mehreren Studien für Amphiphile mit aliphatischen Ketten als hydrophobem Block beobachtet werden.^[114,121,131-134] Es handelt sich dabei um eine Phasenumwandlung zweiter Ordnung, die durch die Aufrichtung des hydrophoben Blocks von der gekippten in die aufrechte Konformation mit zunehmender Filmkomprimierung gekennzeichnet ist.

Islam et al.^[121] machten ähnliche Beobachtungen bei der Untersuchung von Ethylenglycolmono-*n*-tetradecanether, Ethylenglycolmono-*n*-hexadecanether und Ethylenglycolmono-*n*-octadecanether. Die beiden längerkettigen Fettsäuren wiesen Knickpunkte in den Isothermen auf, wohingegen die Fettsäure mit nur 14 Ketten keinen Knickpunkt in der Isotherme zeigte.^[121]

Gericke et al.^[114] untersuchten das Phasenverhalten verschiedener gesättigter Fettsäuren mittels IRRAS. Sie beobachteten für die längerkettigen Fettsäuren (Stearinsäure

und Palmitinsäure), ähnlich wie in unserem Fall, einen konstanten Anstieg des Oberflächendrucks mit zunehmender Komprimierung und das Vorhandensein eines Knickpunktes. Die Plateauregion bei einem Oberflächendruck von ungefähr 0 mN/m beschreiben sie als Koexistenzbereich von gasanaloger Phase und flüssig-kondensierter Phase. Die Pentadecansäure mit weniger CH_2 -Ketten in der hydrophoben Schwanzgruppe, zeigte einen zusätzlichen Phasenübergang vom flüssig-expandierten in den flüssig-kondensierten Zustand. Den Knickpunkt ordneten sie der Phasenumwandlung vom flüssig-kondensierten Zustand in den festanalogen Zustand zu. Nach heutigem Stand kann diese Phasenumwandlung auch als Umwandlung vom gekippten flüssig-kondensierten Zustand in den aufrecht flüssig-kondensierten Zustand bezeichnet werden.^[85] Die Untersuchung der Lage der Knickpunkte bei verschiedenen Temperaturen (15 und 21 °C) und pH-Werten (pH 2 und 6) ergab für alle drei Systeme unterschiedliche Verschiebungen. Bei der Stearinsäure stieg sowohl die Fläche pro Molekül als auch der Oberflächendruck mit steigender Temperatur an. Bei der Pentadecansäure stieg mit zunehmender Temperatur wiederum der Oberflächendruck, jedoch nahm diesmal die Fläche pro Molekül ab. Bei der Palmitinsäure blieb die Fläche pro Molekül gleich und der Oberflächendruck verringerte sich minimal.^[114] Was genau die Ursache für die Verschiebung des Knickpunktes ist, wurde von den Autoren leider nicht weiter erklärt.

In unserem Fall verschob sich der Knickpunkt mit steigender Temperatur zu größeren Flächen und kleineren Oberflächendrücken. Eine Erklärung dafür wäre in der Zunahme der thermischen Bewegung und der Kettenflexibilität der Moleküle mit steigender Temperatur zu finden. Die zunehmende thermische Bewegung der Moleküle sorgt dafür, dass die Moleküle sich leichter in die dichteste Packung überführen lassen und dafür weniger Kraft aufgewendet werden muss. Das bedeutet, dass mit steigender Temperatur der Phasenübergang von der gekippten in den aufrecht flüssig-kondensierten Zustand leichter, also bei größeren Flächen und kleineren Oberflächendrücken, zu realisieren ist. Der Filmkollaps folgt dem gleichen Verhalten und verschiebt sich mit steigender Temperatur zu größeren Flächen und kleineren Oberflächendrücken. Mit diesem Erklärungsansatz kann auch die Verschiebung der Isothermen bei 10 °C zu kleineren Flächen gedeutet werden. Die Isotherme bei 30 °C ist verglichen mit der Isotherme bei 20 °C minimal zu kleineren Flächen verschoben. Diese Verschiebung kann durch Spreitungsfehler hervorgerufen worden sein und wird deswegen nicht weiter diskutiert.

Eine weitere Erklärung für die Abnahme der Filmstabilität mit steigender Temperatur kann durch die zunehmende Dehydratisierung der hydrophilen Kopfgruppe mit steigender Temperatur hervorgerufen werden.^[135,136] Dadurch nimmt die Hydrophobizität zu, der amphiphile Charakter des Amphiphils nimmt ab und die Monolage wird destabilisiert. Das führt dazu, dass mit steigender Temperatur die Filmstabilität abnimmt und der Filmkollaps bereits bei kleineren Oberflächendrücken auftritt. Neben der Enthalpie des Systems spielt auch die Entropie des Systems eine entscheidende Rolle. Die Entropie des Systems nimmt mit steigender Temperatur zu.

3.2.2 Einfluss des pH-Wertes auf das Phasenverhalten

Der pH-Wert der Subphase scheint einen geringeren Einfluss auf das Phasenverhalten des Amphiphils zu haben. Alle Isothermen in dem gemessenen pH-Wert Bereich liegen annähernd übereinander und zeigen annähernd die gleichen Phasenumwandlungsdrücke.

Zhang et al.^[128] beobachteten das gleiche Verhalten bei der Untersuchung des Phasenverhaltens von Dipalmitoylphosphortidsäure (DPPA) bei verschiedenen pH-Werten. Sie fanden heraus, dass aufgrund von attraktiven Van der Waals Wechselwirkungen zwischen den Alkylketten und Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Phosphatkopfgruppen DPPA bereits bei Raumtemperatur in einer hochgeordneten Phase vorliegt. Bereits bei großen Flächen existieren damit die gasanaloge und die gekippte flüssig-kondensierte Phase gleichzeitig. Die Umwandlung von der gekippten in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase ist durch einen Knickpunkt gekennzeichnet.

In Übereinstimmung mit dem von uns beobachteten Phasenverhalten des CHOL-HEM bei verschiedenen pH-Werten, konnten Zhang et al.^[128] beim DPPA kein Unterschied im Phasenverhalten bei pH-Werten unterhalb von 10 feststellen. Diesen Sachverhalt erklärten sie damit, dass bei tiefen pH-Werten die Monolage zunächst vollständig protoniert ist. Mit steigendem pH-Wert wird die Monolage immer mehr deprotoniert. Dadurch werden überschüssige Protonen aus der Subphase durch die negativ geladene DPPA Monolage angezogen. Es bildet sich eine elektrochemische Doppelschicht, wodurch die Protonenkonzentration an der Wasser/Luft-Grenzfläche deutlich höher ist. Der pH-Wert in der Nähe der Phosphatgruppen ist somit niedriger als der pH-Wert der Subphase. Schlussfolgernd

muss der pH-Wert der Subphase erhöht werden um eine Deprotonierung der Phosphatgruppen zu beobachten.

Für das DPPA fanden sie heraus, dass dieses unterhalb eines pH-Wertes von 10 vorwiegend neutral vorliegt und nur wenige deprotonierte Kopfgruppen aufweist. Die deprotonierten Kopfgruppen weisen zum einen größere repulsive elektrostatische Wechselwirkungen untereinander auf. Zum anderen besitzen sie aber auch mehr Bindungsstellen um Wasserstoffbrückenbindungen mit benachbarten hydrophilen Kopfgruppen zu bilden. Mit steigendem pH-Wert nehmen also die repulsiven Abstoßungskräfte zwischen den hydrophilen Kopfgruppen zu und die Isotherme wird dementsprechend zu größeren Flächen verschoben.

Gleichzeitig werden die hydrophilen Kopfgruppen durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen näher zusammengezogen. Das würde zu einer Verschiebung der Isotherme zu kleineren Flächen führen. Kommt es zu einer Aufhebung dieser beiden entgegengesetzten Effekte, ist kein Unterschied im Phasenverhalten beobachtbar und die Isothermen liegen übereinander. Bei pH-Werten über 10 dominiert hingegen die deprotonierte Spezies gegenüber der nicht geladenen. In dem Fall nehmen die elektrostatischen Abstoßungskräfte zu, wodurch eine Verschiebung der Isothermen zu größeren Flächen hervorgerufen wird.^[128]

Das Phasenverhalten des Amphiphils CHOL-HEM wurde in einem pH-Wert Bereich zwischen 5 und 10 untersucht. In diesem Bereich überwiegt höchstwahrscheinlich, analog zu der eben beschriebenen Studie von Zhang et al.^[128], die neutrale Spezies gegenüber der deprotonierten Spezies. In diesem Fall werden vermehrt Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den deprotonierten Carboxylgruppen des hydrophilen Blocks gebildet. Diese bewirken eine dichtere Anordnung der Moleküle innerhalb der Monolage. Der zunehmende Deprotonierungsgrad mit steigendem pH-Wert sorgt demnach für eine stärkere Verbrückung durch die Wasserstoffbrückenbindungen. Gleichzeitig steigen aber auch die repulsiven Abstoßungskräfte.

Durch die Ausbildung einer elektrochemischen Doppelschicht (COO^-/H^+) ist der pH-Wert in diesem Bereich deutlich niedriger als in der Subphase. Für eine Monolage aus Stearinsäure wurde berichtet, dass der pH-Wert an der Grenzfläche sogar 4 pH-Wert Einheiten tiefer liegt als in der Subphase.^[137] Dementsprechend überwiegt in dem von uns untersuchten

pH-Bereich höchstwahrscheinlich die protonierte Spezies gegenüber der deprotonierten Spezies. Das Phasenverhalten ist demnach für die untersuchten pH-Werte identisch.

Die Erhöhung des Kollapsdrucks mit steigendem pH-Wert wird vermutlich durch die leichte Zunahme der deprotonierten Spezies verursacht. Um den damit stärker werdenden Abstoßungskräften entgegen zu wirken, muss bei der Kompression des Films mehr Kraft aufgewendet werden. Das führt zu einer Erhöhung des Kollapsdrucks mit steigendem pH.

3.2.3 Einfluss der Calciumkonzentration auf das Phasenverhalten

Der Phasenverlauf des Amphiphils verändert sich mit zunehmender Calciumkonzentration. Ein solches Verhalten ist nicht ungewöhnlich und wurde bei verschiedenen Amphiphilen, besonders bei Phospholipiden^[128,138–142] und Fettsäuren^[112,116,119,143], beobachtet.

In einer Studie von Tang et al.^[119] wurde der Einfluss von Mg^{2+} - und Ca^{2+} -Ionen bei Konzentrationen von 0,1 und 0,3 M auf das Phasenverhalten von Palmitinsäure mittels Summenfrequenzspektroskopie (engl. vibrational sum frequency generation spectroscopy, VSFG) untersucht. Bei geringen Magnesiumkonzentrationen (0,1 M) und auf einer reinen Wassersubphase konnte ein Knickpunkt in der Isotherme beobachtet werden. Eine Erhöhung der Magnesiumkonzentration auf 0,3 M führte zu einem Verschwinden des Knickpunktes. Die Untersuchung des Phasenverhaltens bei verschiedenen Calciumkonzentrationen (0,1 und 0,3 M) zeigte keinen Knickpunkt in der Isotherme. Diese Unterschiede begründeten sie mit der höheren Bindungsaffinität der Calciumionen zu den deprotonierten Carboxylgruppen verglichen mit den Magnesiumionen.^[144]

Tang et al. zeigten weiterhin, dass in Anwesenheit beider Ionen die Alkylketten des hydrophoben Blocks bereits bei einem Oberflächendruck von ungefähr 0 mN/m in einer annähernden „all-trans“-Konformation vorliegen.^[119] Bei diesem Oberflächendruck existieren also die gasanaloge und aufrecht flüssig-kondensierter Phase gleichzeitig und eine Kompression des Films führt zu einem Phasenübergang in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase. Bei pH-Werten um 7 sorgt die Bindung zwischen den Ca^{2+} -Ionen und den Carboxylgruppen zusätzlich für die Deprotonierung der hydrophilen Kopfgruppe.

Bei tiefen Calciumkonzentrationen (0,1 M) zeigten sie außerdem mittels VSFG, dass zunächst eine Brückenkonformation zwischen 2 COO^- -Gruppen und einem Ca^{2+} -Ion gebildet

wird. Diese wandelt sich anschließend zu einem gewissen Teil in einen zweizähligen Chelatkomplex (1 Ca^{2+} :1 COO^-) um. Bei höheren Konzentrationen von 0,3 M existiert nur noch die 2:1 Brückenkonformation, unabhängig davon wieviel Zeit zur strukturellen Reorganisation gegeben wird (siehe Abbildung 20).^[119]

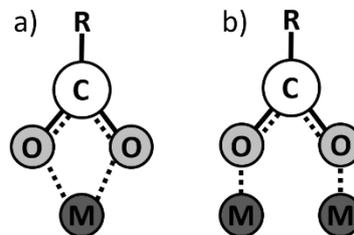


Abbildung 20: Bildung verschiedener Calciumkomplexe. (a) Bildung eines zweizähligen Chelatkomplexes und (b) Bildung eines Brückenkomplexes. R-COO steht für die Carboxylgruppe und M für das Metallion (zum Beispiel Ca^{2+}).

Anders zu den eben beschriebenen Beobachtungen, verschwindet der Phasenübergang von der gekippten zur aufrecht flüssig-kondensierten Phase im Fall des CHOL-HEM nicht. Der Phasenübergang verschiebt sich jedoch mit steigender Calciumkonzentration zu deutlich kleineren Oberflächendrücken, wobei die maximale Calciumkonzentration in unserem Fall 0,2 M betrug. Bei der Betrachtung des Kurvenverlaufs wäre denkbar, dass bei Verwendung einer noch höheren Calciumkonzentration dieser Phasenübergang komplett verschwindet.

Diese Beobachtungen sind vergleichbar mit einer Studie von Tang et al.^[115], bei der der Einfluss von Na^+ - und K^+ -Ionen auf das Phasenverhalten von Palmitinsäure mittels VSFG Spektroskopie untersucht wurde. Sie stellten fest, dass mit steigender Ionenkonzentration der Filmkollaps zu größeren Oberflächendrücken und der Phasenübergang von der gekippten in die aufrecht flüssig-kondensierten Phase zu kleineren Oberflächendrücken verschoben wird. Diese Beobachtungen stimmen mit unseren überein. Der Phasenübergang von der gekippten in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase wird in Anwesenheit von K^+ -Ionen deutlich stärker zu kleineren Oberflächendrücken verschoben, als in Anwesenheit von Na^+ -Ionen.^[115]

Dieser Unterschied beruht auf den unterschiedlichen Wechselwirkungen dieser beiden Ionen mit den hydrophilen Kopfgruppen. Die Anwesenheit der Kationen initiiert die Deprotonierung der Carboxylgruppen der hydrophilen Kopfgruppe durch zwei Mechanismen. Die Ladungsdichte eines K^+ -Ions ist verglichen zum Na^+ -Ion halb so groß, wodurch ersteres weniger stark an umgebende Wassermoleküle bindet. Das spiegelt sich auch in den

hydrodynamischen Radien dieser beiden Ionen wieder (Na^+ 3,3 Å; K^+ 2,4 Å).^[115] Dadurch können die K^+ -Ionen leichter zu den Kopfgruppen diffundieren und mit diesen wechselwirken als die Na^+ -Ionen. Zwischen den K^+ -Ionen und den hydrophilen Kopfgruppen kommt es zu einer starken Bindung, die dafür sorgt, dass die Kopfgruppe die Wassermoleküle in der ersten Hydratationsschale um das K^+ -Ion ersetzt. Dadurch wird die Kopfgruppe deprotoniert und es bildet sich ein 1:1 COO^-/K^+ Komplex. Beim Natrium erfolgt die Deprotonierung der Kopfgruppen durch weitreichende elektrostatische Wechselwirkung mit den hydratisierten Na^+ -Ionen. Diese beiden unterschiedlichen Wechselwirkungen der beiden Kationen mit den hydrophilen Kopfgruppen führen zum Herabsetzen des Phasenumwandlungsdrucks von der gekippten in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase.^[115]

Das bedeutet, dass die Verschiebung des Phasenumwandlungsdrucks beim CHOL-HEM durch Wechselwirkungen zwischen den hydrophilen Kopfgruppen und den Calciumionen verursacht werden kann.

In einer Studie von Zhang et al.^[128] wurde entgegengesetzt zu unseren Beobachtungen die Verschiebung der Isothermen zu größeren Flächen in Anwesenheit von divalenten Kationen wie Ca^{2+} und Mg^{2+} beobachtet. Sie untersuchten das Phasenverhalten von Dipalmitoylphosphortidsäure (DPPA) in Anwesenheit verschiedener Kationen bei verschiedenen pH-Werten. Aufgrund ihrer höheren Oberflächenladungsdichte besitzen divalente Kationen wie beispielsweise Mg^{2+} und Ca^{2+} eine größere Bindungsaffinität als monovalente Kationen wie H^+ , Na^+ , K^+ etc. Divalente Kationen sind in der Lage, benachbarte DPPA Moleküle zu komplexieren, wodurch elektrostatische Abstoßungskräfte aufgehoben werden und die Monolage stabilisiert wird. Das hat zur Folge, dass die Filme in Anwesenheit divalenter Kationen stärker kondensiert sind. Die divalenten Kationen sorgen für eine Deprotonierung der Phosphatkopfgruppen, wodurch aufgrund der stärkeren Ladungsabstoßung die Isotherme zu größeren Flächen verschoben wird. Aufgrund der Komplexbildungen mit den divalenten Kationen fällt die Verschiebung zu größeren Flächen deutlich geringer aus als in Abwesenheit divalenter Kationen. Auch hier zeigte sich wieder, dass Ca^{2+} stärkere Wechselwirkungen mit der Kopfgruppe aufweist als Mg^{2+} . Dieses Phänomen begründeten sie mit der höheren Bindungsaffinität zu der Phosphatkopfgruppe von Ca^{2+} verglichen mit Mg^{2+} .

Ob die Verschiebung der Isothermen in Anwesenheit von Ca^{2+} zu kleineren oder größeren Flächen erfolgt, hängt vom System ab. Bei unserem Amphiphil können die Ca^{2+} -

Ionen mit den deprotonierten Carboxylgruppen der hydrophilen Kopfgruppe verbrücken beziehungsweise komplexieren. Das führt zu einem näheren Zusammenrücken der einzelnen Amphiphilmoleküle. Dementsprechend sind die jeweiligen Phasenübergänge zu kleineren Flächen verschoben. Mit steigender Calciumkonzentration nimmt zum einen die Ionenstärke und zum anderen die Anzahl der deprotonierten Carboxylgruppen zu. Das bedeutet, dass auch die Wechselwirkungen beziehungsweise die Verbrückungen zunehmen. Vermutlich sind bei einer Calciumkonzentration von 2 mM nicht alle Carboxylgruppen deprotoniert, wodurch der „Verbrückungsgrad“ kleiner ist als bei höheren Calciumkonzentrationen. Es wäre weiter denkbar, dass mit steigender Anzahl an Ca^{2+} -Ionen nicht nur direkt benachbarte deprotonierte Carboxylgruppen, sondern auch deprotonierte Carboxylgruppen in größerer Entfernung miteinander verbrücken können. Das hätte zur Folge, dass der Flächenbedarf mit steigender Calciumkonzentration abnimmt. Wie bereits zuvor erwähnt, führt eine solche Verbrückung zu einer Zunahme der Filmstabilität und eine Verschiebung des Kollapsdrucks zu höheren Oberflächendrücken. Je höher also der „Verbrückungsgrad“, desto stabiler der Film und höher der Kollapsdruck.

3.2.4 Untersuchung der Filmstabilität

Die Kompressions-/Expansionskurven zeigen bei höheren Temperaturen deutlich geringere Hysterese. Der Grund für die größeren Hysterese bei tiefen Temperaturen liegt vermutlich in der thermischen Beweglichkeit der Moleküle. Mit steigender Temperatur nimmt die thermische Beweglichkeit zu, wodurch die Moleküle schneller auf die gegebenen Einflüsse reagieren und sich besser reorganisieren können. Bei tieferen Temperaturen reagiert das System langsamer und braucht dementsprechend mehr Zeit für die Reorganisation der Moleküle.

Die Hysterese bei der Expansion aus der aufrecht flüssig-kondensierten Phase sind stärker ausgeprägt als bei der Expansion aus der gekippten flüssig-kondensierten Phase. Es ist also schwieriger, die Amphiphilmoleküle von der aufrechten in die gekippte flüssig-kondensierte Phase zu überführen. Das liegt wahrscheinlich zum einen daran, dass die wirkenden Abstoßungskräfte zwischen den einzelnen Molekülen in der aufrecht flüssig-kondensierten Phase um einiges höher sind als zwischen den Molekülen in der gekippten flüssig-kondensierten Phase. Zum anderen sind die Van der Waals Anziehungskräfte zwischen

den Molekülen in der aufrecht flüssig-kondensierten Phase stärker. Gehen wir davon aus, dass die Abstoßungskräfte gegenüber den Anziehungskräften überwiegen, so führt eine plötzliche Expansion zu einem ruckartigen Auseinanderreißen der Monolage. Dadurch werden bei der Expansion aus der aufrechten Konformation mehr Amphiphilmoleküle in der Subphase gelöst als bei der Expansion aus der gekippten Konformation. Demnach ist die Monolage in der aufrecht flüssig-kondensierten Phase instabiler als in der gekippten flüssig-kondensierten Phase.

Es können jedoch auch Hysteresen für stabile Monolagen beobachtet werden. Diese werden durch die Organisation und Desorganisation der Moleküle oder durch die Bildung von Domänen während der Kompression hervorgerufen. Bei der anschließenden Expansion können diese nicht wieder in ihren Originalzustand zurückkehren.^[117,145] Weiterhin wurde gezeigt, dass das Ausmaß der Hysteresen vom Oberflächendruck, bis zu dem sie komprimiert wurden, abhängt.^[117,145]

Weiterhin kann das Auftreten von Hysteresen durch einen geringen Materialverlust durch die Lösung einiger Amphiphilmoleküle in der Subphase erklärt werden. Dieses Phänomen wurde bereits für verschiedene Systeme beobachtet.^[145-147]

Andere Studien sahen die Ursache der Hysteresen in der Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen während der Kompression der Moleküle.^[148-150] Du et al.^[150] beobachteten bei der Untersuchung des Kompressions-/Expansionsverhaltens von *N*-Octadecanoyl-L-alanin zunehmende Hysteresen mit steigenden Oberflächendrücken. Sie schlussfolgerten, dass die Moleküle innerhalb der kondensierten Phase dichter aggregieren. Die Ursache dafür war die Bildung eines intermolekularen Netzwerkes aus Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den einzelnen Molekülen.^[150]

Diese Erklärung würde auch gut mit unseren Beobachtungen zusammenpassen, da die Wasserstoffbrückenbindungen bei tiefen Temperaturen stärker ausgebildet sind als bei höheren Temperaturen und damit auch die größere Hysterese bei tiefen Temperaturen erklärt werden kann. Die Wasserstoffbrückenbindungen führen zu einer Verbrückung der Ketten, die bei der Expansion nicht genügend Zeit haben, sich zu reorganisieren.^[148] Ein weiterer Grund könnte sein, dass die Reorganisation der einzelnen Moleküle deutlich langsamer als die Bewegung der Barrieren erfolgt.^[147]

3.2.5 Mineralisation von Calciumphosphat

In diesem Teil soll der Einfluss des Amphiphils mit einer Carboxylatgruppe im hydrophilen Block auf die Mineralisation von CP untersucht werden (Schema 3). Zunächst werden die Wechselwirkungen der Subphasenkomponenten mit der Monolage diskutiert.

Damit unterhalb der Monolage eine lokale Keimbildung hervorgerufen werden kann, muss die Monolage zunächst mit Calcium- und Phosphationen angereichert werden. IRRAS Messung bestätigen die Anreicherung von Phosphationen unterhalb der Monolage bei Calciumkonzentration von 2 mM und 20 mM. Dabei verläuft die Anreicherung bei einer Calciumkonzentration von 2 mM deutlich langsamer und mit einer geringeren Intensität, was auf die geringere Konzentration zurückzuführen ist (Abbildung 12).

Die Anreicherung verläuft in beiden Fällen nicht linear und scheint über mehrere Stufen mit verschiedenen Effizienzen und Anreicherungsraten abzulaufen. Nach unserem besten Wissen ist dies das erste Beispiel, mit dem die direkte Assoziation von Phosphationen unterhalb einer Monolage für die Mineralisation von CP gezeigt werden konnte.

Die Morphologien der mineralisierten Hybridmaterialien zeigen im AFM (Abbildung 14), STEM (Abbildung 15) und Hellfeld TEM (Abbildung 16) größtenteils große Plättchen, die zu dünnen gefalteten Schichten aggregiert sind. Eine solche Morphologie ist nicht ungewöhnlich für die Mineralisation von CP und wurde bereits mehrere Male bei der Mineralisation in Bulklösung beobachtet.^[26,28,54,151,152] Antonietti et al. zeigten, dass sich bei der Mineralisation von CP ohne Additiv bei einem pH-Wert von 6,3 ähnliche plattenartige Strukturen bildeten, die in dünnen Schichten gefaltet vorlagen. Die Mineralisation erfolgte bei deutlich höheren Calcium- und Phosphatkonzentrationen (30 mal höher als die Mineralisation in unserem Fall bei 20 mM) mit einem Ca/P Verhältnis von 1/0,6. Bei den Platten handelte es sich entsprechend um kristallines HAP und nicht wie in unserem Fall um OCP.^[26] Da es sich bei OCP jedoch um einen Vorläufer des HAP handelt, ist dies nicht verwunderlich. Weiterhin haben wir in der nachfolgenden Studie (Kapitel 4) die gleiche Morphologie für ein Gemisch aus OCP und HAP gefunden.

Eine ähnliche Morphologie für HAP beobachteten Nudelman et al. bei der Mineralisation von CP in Anwesenheit von Kollagen in Bulklösung.^[152] Diese Morphologie kann auch bei der Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche gebildet werden. Einen

Beweis dafür zeigten wir in einer vorherigen Studie für ein negativ geladenes Oligomer. Die Zuordnung der Kristallphase war in diesem Fall allerdings aufgrund von nicht durchgeführten SAED und HRTEM nicht möglich.^[54]

In der aktuellen Studie konnte mittels SAED und HRTEM (Abbildung 16) OCP als Kristallphase identifiziert werden. Zusätzliche XPS und EDXS Messungen unterstützten diese Ergebnisse mit einem gefundenen Ca/P Verhältnis von 1,32 (XPS) und durchschnittlich zwischen 1,31 und 1,36 (EDXS). Diese Verhältnisse stimmen gut mit dem Literaturwert für das Ca/P Verhältnis von OCP von 1,33 überein.^[125]

Diese Daten sprechen dafür, dass die Mineralisation von CP in Anwesenheit des Amphiphils bereits nach 3 h zu OCP führt. Die Mineralisation über weitere 2 h zeigt keine Veränderung der Kristallphase und spricht für OCP als stabilste Modifikation. Da die Isolierung der Proben erst nach 3 h erfolgte, kann keine Aussage über den genauen Mineralisationsverlauf getroffen werden. Aufgrund dessen wurden für das Amphiphil A-CHOL (Kapitel 4) zusätzlich Untersuchungen nach 1 h Mineralisationszeit durchgeführt.

Es kann aufgrund der pH-Messungen angenommen werden, dass die Bildung von OCP über mindestens eine Zwischenstufe erfolgt. Es ist weiterhin bekannt, dass beispielsweise die Bildung von HAP je nach Reaktionsbedingungen über mehrere Vorläuferphasen erfolgen kann. Diese beginnt meist mit der Bildung von ACP und verläuft über DCPD oder OCP zu HAP.^[22,28,71,153] Analog zur Ostwaldregel fällt zunächst die thermodynamisch instabilere Phase aus, die sich dann nach und nach in die thermodynamisch stabilste Phase umwandelt.^[16,42]

Der genaue Mineralisationsverlauf kann durch die Wahl eines geeigneten Additivs beeinflusst werden. Mehrere Studien haben bisher gezeigt, dass zum Beispiel Polyelektrolyte die Hydrolyse von OCP zu HAP hemmen oder ganz unterdrücken können.^[154–158] So konnten Tsortos et al. zeigen, dass Poly(L-glutamat) und Poly(L-aspartat) die Phasenumwandlung von OCP zu HAP inhibieren.^[157] Bigi et al. untersuchten die gleichen Polyelektrolyte wie Tsortos et al. und stellten fest, dass das Poly(L-glutamat) die Hydrolyse von OCP zu HAP besser hemmen kann. Die Autoren vermuten, dass die Hydrolyse von OCP zu HAP durch einen Schicht-zu-Schicht Mechanismus durch die Spaltung zu kleineren Kristallen stattfindet.

Die verwendeten Polymere adsorbieren bevorzugt an der hydratisierten Schicht des OCP Kristalls in [100] Richtung. Die Adsorption der Polyelektrolyte verhindert die Spaltung der OCP Kristalle entlang der c-Achse und somit die Hydrolyse von OCP zu HAP. Das Poly(L-

glutamat) kann zudem durch die zusätzliche Methylengruppe die OCP Kristalle besser bedecken als das Poly(L-aspartat).^[159]

Bigi et al.^[156] konnten außerdem zeigen, dass das Molekulargewicht des Polyelektrolyten eine entscheidende Rolle bei der Umwandlung von OCP zu HAP spielt. Sie verwendeten Poly(acrylsäuren) mit verschiedenen Molekulargewichten. Die Poly(acrylsäure) mit dem kleineren Molekulargewicht (2000 g/mol) konnte die Hydrolyse von OCP effizienter hemmen als die Poly(acrylsäure) mit dem höheren Molekulargewicht (25000 g/mol). Die Poly(acrylsäure) mit der höheren Molmasse liegt aufgrund der Größe nicht flach, sondern eher gefaltet auf dem OCP Kristall, wodurch nur ein Teil der Carboxylatgruppen mit dem Kristall wechselwirken kann. Die Autoren vermuten, dass die Poly(acrylsäure) mit der kleineren molaren Masse besser mit der Oberfläche des OCP Kristalls wechselwirken und die Umwandlung von OCP zu HAP effektiver verhindern kann.^[156]

Ein ähnlicher Mechanismus kann für das CHOL-HEM postuliert werden, welches durch Adsorption an die OCP Kristalle die Hydrolyse zum HAP verhindert. Dabei handelt es sich bei der Bildung von OCP um einen mehrstufigen Prozess über beispielsweise ACP als Vorläuferphase. Solche Phasenumwandlungen können anhand der pH-Kurven beobachtet werden.

Bei der Bildung einer Calciumphosphatkristallphase werden Protonen frei, die zum Abfall des pH-Wertes führen. Vergleicht man die pH-Kurven bei einer Konzentration von 2 und 20 mM miteinander, so zeigen beide pH-Kurven zwei Stufen im pH-Abfall. Bei höheren Konzentrationen sind die einzelnen Phasenumwandlungen zu höheren Reaktionszeiten verschoben als bei tiefen Konzentrationen. Diese Verschiebung wird vermutlich durch die bei hohen Konzentrationen schneller ablaufende Mineralisation hervorgerufen. Zudem wird mit steigender Konzentration auch mehr CP gebildet und demnach mehr Protonen freigesetzt. Bei kleineren Konzentrationen ist die pH-Kurve dementsprechend zu höheren pH-Werten verschoben.

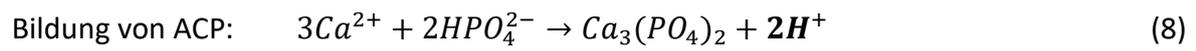
Ein solches zweistufiges Verhalten beobachteten auch Mekmene et al.^[70] bei der Untersuchung des pH-Verlaufs bei der Mineralisation von CP in Bulklösung. Sie verwendeten unter anderem die gleichen Calcium- und Phosphatkonzentrationen (jeweils 20 mM). Die zwei Stufen beobachteten sie nach etwa 20 min und 60 min. Dieses Verhalten erklärten sie mit der Bildung und Auflösung mehrerer Intermediate im Laufe der Mineralisation. Weiterhin begründeten sie dies mit dem sinkenden Sättigungszustand durch die Verschiebung des

Gleichgewichtes der Phosphatspezies von PO_4^{3-} zu HPO_4^{2-} und schließlich zu H_2PO_4^- , mit sinkendem pH. Zusätzlich zeigten sie, dass mit steigendem Ca/P Verhältnis der pH-Wert zum einem stärker abfällt und zum anderen die Stufen zu kleineren Reaktionszeiten und tieferen pH-Werten verschoben werden.^[70]

Dieser Lösungsansatz könnte auch für unser Experiment gelten. Die Unterschiede in der Lage der Stufen kann durch mehrere Faktoren verursacht werden. Zum einen fand unsere Reaktion im Trog statt, wodurch die Durchmischung trotz Rührfisch in der Dippervertiefung weniger effektiv war, als beispielsweise in einem Becherglas. Zusätzlich gab es lokale Konzentrationsunterschiede, da wir eine 3 M Diammoniumhydrogenphosphatlösung eingesetzt haben, um die gewünschte Gesamtkonzentration zu erzielen. Des Weiteren war unsere Grenzfläche mit einer Monolage des Amphiphils gesättigt, was Einfluss auf das Mineralisationsverhalten und damit auf den pH-Verlauf hat.

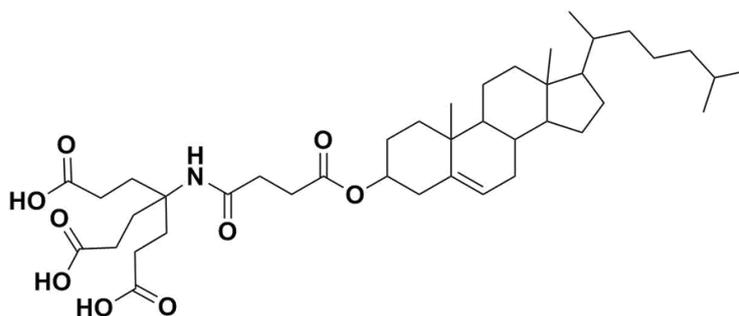
Ofir et al.^[151] beobachteten eine zusätzlich Stufe in ihren pH-Kurven. Sie untersuchten den Einfluss verschiedener Polyelektrolyte (Poly(styrenesulfonat), Poly(L-lysin), Poly(L-glutaminsäure)) auf die Bildung und Umwandlung von amorphen CP (ACP). Basierend auf den Ergebnissen der EDXS Messungen, TEM und Elektronenbeugung erklärten sie die Stufen folgendermaßen: die erste sehr kleine Stufe umfasste die Fällung von ACP, die zweite größte Stufe die Fällung einer kristallinen Phase neben der amorphen Phase und die dritte kleine Stufe beinhaltet das Kristallwachstum und die Phasenumwandlung.^[151]

Die erste Stufe in unseren pH-Kurven könnte durch die Fällung einer thermodynamisch instabileren Spezies wie beispielsweise ACP oder DCPD erklärt werden. Die zweite Stufe kann durch die Bildung erster OCP Kristalle und deren Wachstum und folglich die Auflösung der ersten ACP oder DCPD Spezies erklärt werden. Nehmen wir diesen Reaktionsverlauf an, so verdeutlichen die Reaktionsgleichungen (Gleichung 8 und 9) das Freiwerden von Protonen und den damit verbundenen pH-Wert Abfall. Bei der Bildung von OCP werden doppelt so viele Protonen frei wie bei der Bildung von ACP. Dementsprechend ist die erste Stufe in den pH-Kurven schwächer ausgebildet als die zweite. Nach der Bildung der OCP Phase bleibt der pH-Wert annähernd konstant. Das spricht dafür, dass keine weiteren Phasenumwandlungen mehr stattfinden. Dieser Sachverhalt wird zusätzlich durch SAED, HRTEM, EDXS und XPS unterstützt, die nach 3 und 5 h OCP als Kristallphase bestätigen.



4. Grenzflächen-kontrollierte Mineralisation von CP durch ein dendritisches Amphiphil

In diesem Kapitel wird das Phasenverhalten eines dendritischen Amphiphils (A-CHOL) und deren Einfluss auf die Mineralisation von CP untersucht. Es besteht aus einem Newkome Typ Dendron als hydrophiles Segment und einer Cholesteryleinheit als hydrophoben Block (Schema 4).



Schema 4: Struktur des Amphiphils A-CHOL. $M_w = 715,96 \text{ g/mol}$.

4.1 Ergebnisse

4.1.1 Charakterisierung des Phasenverhaltens an der Wasser/Luft-Grenzfläche

Bevor mit der Mineralisation von CP begonnen werden kann, muss zunächst das Phasenverhalten des A-CHOLs an der Grenzfläche untersucht werden. Dazu wurden zunächst Langmuir-Isothermen bei verschiedenen Temperaturen, pH-Werten und Calciumkonzentrationen aufgenommen. Für die Untersuchungen des Phasenverhaltens wurde Trog A verwendet (siehe Experimentalteil 8.2).

4.1.1.1 Phasenverhalten bei verschiedenen Temperaturen

Das Phasenverhalten des Amphiphils bei verschiedenen Temperaturen (10, 15, 20 und 30 °C) auf reinem Wasser (pH 5,9) ist in Abbildung 21 dargestellt. Es ist eine starke Temperaturabhängigkeit erkennbar. Für alle Isothermen findet eine Phasenumwandlung von einer 2D gasanalogen Phase zu einer flüssiganalogen Phase statt. Diese Phasenumwandlung ist durch das Plateau gekennzeichnet, welches sich bei einem Oberflächendruck von

annähernd 0 mN/m befindet.^[85,116] In diesem Bereich liegen die gas- und flüssiganaloge Phase nebeneinander vor, wobei es innerhalb dieser Phasenumwandlung keinen messbaren Anstieg des Oberflächendrucks gibt. Die Phasenumwandlung ist mit steigender Temperatur bei einer größeren Fläche (= Fläche pro Molekül) beendet. Bei 10 °C ist die Phasenumwandlung bei 56 Å², bei 15 °C bei 57 Å², bei 20 °C bei 58 Å² und bei 30 °C bei 60 Å² abgeschlossen.

Bei 20 und 30 °C führt die Kompression der flüssiganalogen Phase zu einem abrupten Anstieg des Oberflächendrucks, bis der Film bei einem Druck von 65 mN/m kollabiert. Die bei 10 und 15 °C aufgenommenen Isothermen zeigen ein deutlich anderes Phasenverhalten. Nachdem die gas-flüssiganaloge Phasenumwandlung bei 10 °C bei einer Fläche von 56 Å² abgeschlossen ist, kommt es zu einem steilen Anstieg des Oberflächendrucks. Bei einem Oberflächendruck von 12 mN/m und einer Fläche von 53 Å² kommt es zur Ausbildung eines Quasi-Plateaus. Dieses Plateau hält bis zu einer Fläche von 51 Å² und einem Oberflächendruck von 14 mN/m an. Eine weitere Komprimierung des Films führt zu einem weniger starken Anstieg des Oberflächendrucks bis ein zweites Quasi-Plateau bei einer Fläche von 47 Å² und einem Oberflächendruck von 20 mN/m erscheint. Dieses bleibt bis zu einer Fläche von 45 Å² und einem Oberflächendruck von 22 mN/m stabil. Anschließendes Komprimieren des Films führt zu einem Anstieg des Oberflächendrucks bis zum Filmkollaps bei einer Fläche von 35 Å² und einem Oberflächendruck von 67 mN/m.

Dieser Verlauf ist auch bei 15 °C wiederzufinden, allerdings sind hier die Positionen der beiden Plateaus verschoben. Bei 15 °C ist die Phasenumwandlung von der gasanalogen zur flüssiganalogen Phase bereits bei einer Fläche von 57 Å² und bei einer größeren Fläche als bei 10 °C beendet. Das erste Plateau befindet sich bei einer Fläche von 54 Å² und einem Oberflächendruck von 11 mN/m bis zu einer Fläche von 51 Å² und einem Oberflächendruck von 13 mN/m. Das zweite Plateau existiert ab einer Fläche von 49 Å² und einem Oberflächendruck von 15 mN/m bis zu einer Fläche von 47 Å² und einem Oberflächendruck von 17 mN/m. Nach der Ausbildung dieser Plateaus führt weiteres Komprimieren zu einem ähnlichen Phasenverlauf wie bei höheren Temperaturen. In allen Fällen steigt der Oberflächendruck an bis der Film bei einem Oberflächendruck über 65 mN/m und einer Fläche von ungefähr 35 Å² kollabiert.

Um genau aufzuklären, bei welcher Temperatur das Plateau verschwindet, wurden π -A Isothermen zwischen 15 und 20 °C aufgenommen (Abbildung 21). Die zwei Plateaus, die bereits bei 15 °C sichtbar waren, sind auch bei 16 °C vorhanden. Bei Temperaturen zwischen

17 und 19 °C ist hingegen nur noch ein Plateau beobachtbar. Dieses Plateau ist ab einer Subphasentemperatur von 18 °C nur noch schwach ausgeprägt und verschwindet ab einer Temperatur von 20 °C komplett. Weitere Untersuchungen durch IRRAS Messungen bei 10 und 20 °C konnten leider zu keiner Erklärung der Plateaus beitragen, da die IRRAS Spektren für beide Temperaturen identisch sind (Daten nicht gezeigt).

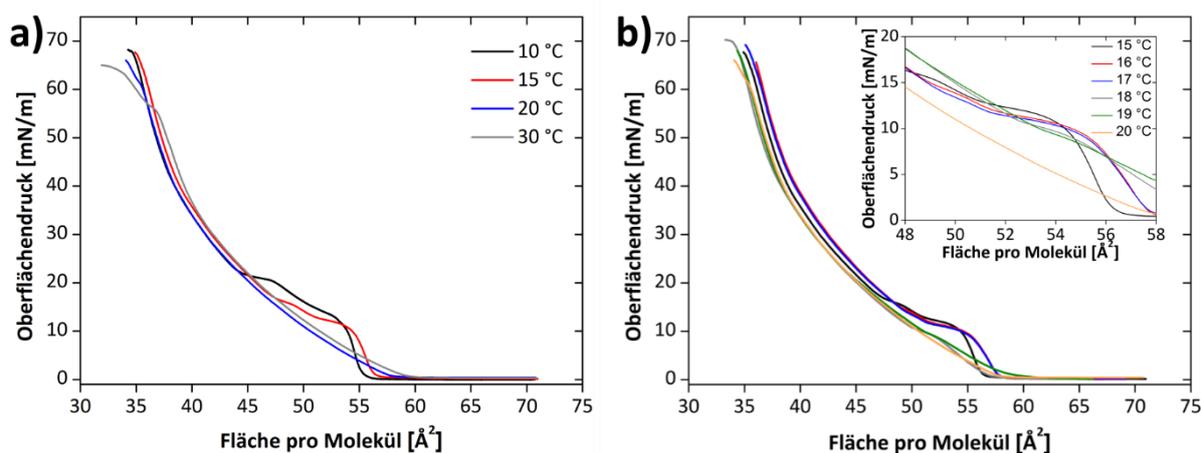


Abbildung 21: π -A Isothermen von A-CHOL (a) bei 10, 15, 20 und 30 °C und (b) bei Temperaturen zwischen 15 und 20 °C sowie eine vergrößerte Ansicht der Plateaubereiche.

4.1.1.2 Phasenverhalten bei verschiedenen pH-Werten

Die π -A Isothermen bei verschiedenen pH-Werten sind in Abbildung 22 wiedergegeben. Bei einem pH-Wert von 10 und höher konnten keine Isothermen aufgenommen werden, da der Oberflächendruck nach dem Spreiten der Amphiphillösung nach wenigen Minuten wieder auf null sank. Bei pH 9 konnte zwar eine Isotherme aufgenommen werden, jedoch ist diese deutlich zu kleineren Flächen verschoben. Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass sich das Amphiphil bei einem pH-Wert über 8 in der Subphase löst und keine stabilen Monolagen mehr ausbildet.

Für pH-Werte zwischen 5 und 8 kann das gleiche Phasenverhalten beobachtet werden. Bei einer Fläche von 70 Å² bis zu einer Fläche von 59 Å² findet eine Phasenumwandlung vom 2D gasanalogen Zustand in einen flüssiganalogen Zustand statt. Eine weitere Filmkomprimierung führt zu einem drastischen Anstieg des Oberflächendrucks, bis der Film schließlich bei einem durchschnittlichen Oberflächendruck von 65 mN/m und einer Fläche von ca. 35 Å² kollabiert. Die Minimalfläche pro Molekül (A_0) ist bei 20 °C für die pH-Werte zwischen 5 und 8 identisch mit A_0 auf reinem Wasser.

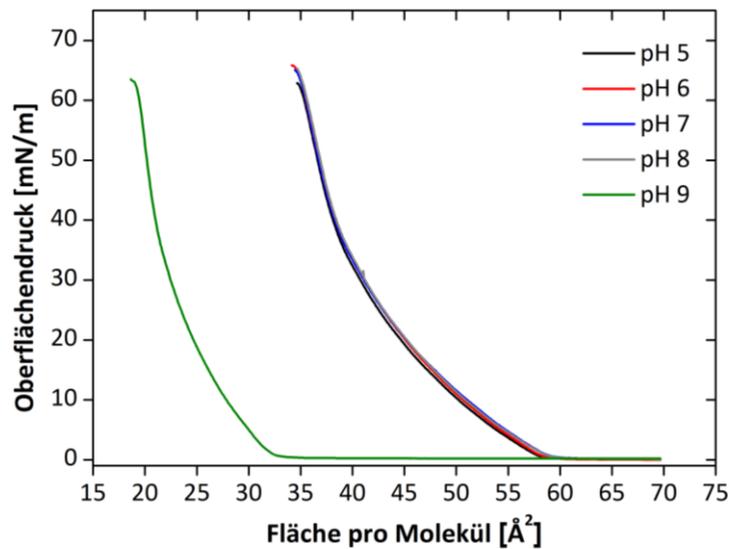


Abbildung 22: π -A Isothermen des Amphiphils an der Wasser/Luft-Grenzfläche für verschiedene pH-Werte bei 20 °C (pH 5 wurde mit verdünnter HCl und pH-Wert 6-9 mit verdünnter NaOH eingestellt).

4.1.1.3 Phasenverhalten bei verschiedenen Calciumkonzentrationen

In Abbildung 23 sind die π -A Isothermen auf Subphasen mit unterschiedlichen Calciumnitratkonzentrationen abgebildet. Die Isothermen bei Calciumkonzentrationen von 2 mM und 20 mM unterscheiden sich kaum voneinander. Der Phasenübergang von der 2D gasanalogen in die flüssiganaloge Phase ist bei einer Fläche von ungefähr 60 Å² beendet. Wird die Fläche des Films weiter verkleinert, steigt der Oberflächendruck solange an, bis der Film bei ca. 64 mN/m und einer Fläche von ca. 34 Å² zusammenbricht.

Im Gegensatz dazu zeigt das Amphiphil bei einer Calciumkonzentration von 200 mM ein anderes Phasenverhalten. Bei großen Flächen bis zu einem Oberflächendruck von etwa 40 mN/m ist der Phasenverlauf annähernd identisch zu den Messungen bei kleineren Calciumkonzentrationen. Wird der Film weiter komprimiert, kommt es bereits bei einem Oberflächendruck von 45 mN/m zum Filmkollaps. Bei den beiden geringeren Calciumkonzentrationen fand dieser erst bei 64 mN/m statt. Zum Vergleich ist die Isotherme des Amphiphils auf reinem Wasser gezeigt. Die Isotherme stimmt zwar nicht perfekt mit den Isothermen auf den salzhaltigen Lösungen überein, jedoch zeigt es annähernd das gleiche Verhalten. Der Wechsel von der Wassersubphase zur Calciumnitratsubphase ändert demnach das Verhalten des Amphiphils nur geringfügig.

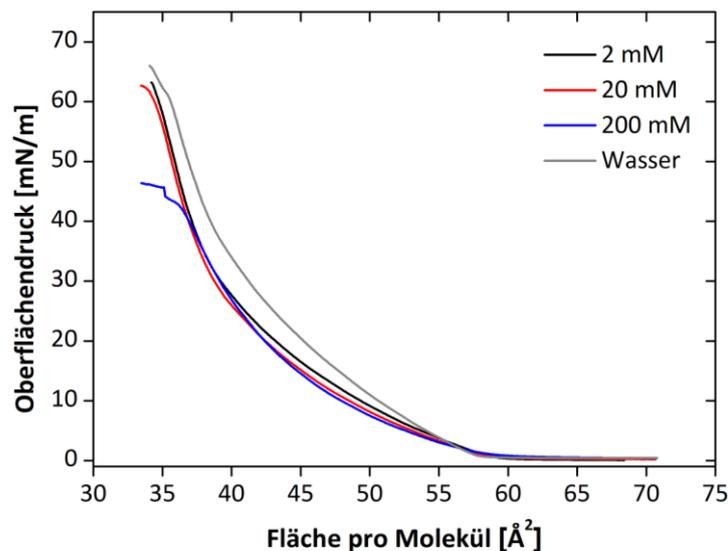


Abbildung 23: π -A Isothermen auf verschiedenen Calciumkonzentrationen (2, 20 und 200 mM) und auf reinem Wasser jeweils bei 20 °C.

4.1.1.4 Dynamik des Films (Filmstabilität)

Abbildung 24 zeigt drei aufeinanderfolgende Kompressions-/Expansionskurven bei 15 und 20 °C. Mit diesen Messungen sollte unter anderem der Einfluss des Plateaus auf die Filmstabilität untersucht werden. Die Kompression wurden bei 15 °C bis zu einem Oberflächendruck von ca. 63 mN/m und bei 20 °C bis ca. 60 mN/m also unterhalb des Kollapsdrucks von etwa 65 mN/m durchgeführt. Die zweite und dritte Kompressionskurve bei 15 °C zeigen den gleichen Kurvenverlauf wie die erste Kompressionskurve. Die Kurven sind mit zunehmenden Kompressionszyklus zu leicht kleineren Flächen verschoben. Alle drei Kompressionskurven bei 15 °C zeigen erneut die Bildung zweier Quasi-Plateaus, die in den Expansionskurven nicht erkennbar sind. Die Expansionskurven liegen außerdem perfekt übereinander.

Dieses Phänomen findet sich auch in den Kompressions-/Expansionskurven bei 20 °C wieder. Alle drei Kurven sind nahezu identisch und eine Verschiebung zu kleineren Flächen mit zunehmenden Kompressions-/Expansionszyklen ist kaum beobachtbar. Dieser Sachverhalt spricht dafür, dass der Film sehr stabil ist und das Amphiphil sich weder in der Subphase löst noch Multilagen gebildet werden. Es lässt sich demnach schlussfolgern, dass der Film auch über mehrere Stunden eine stabile Monolage auf dem Langmuir Trog bildet.

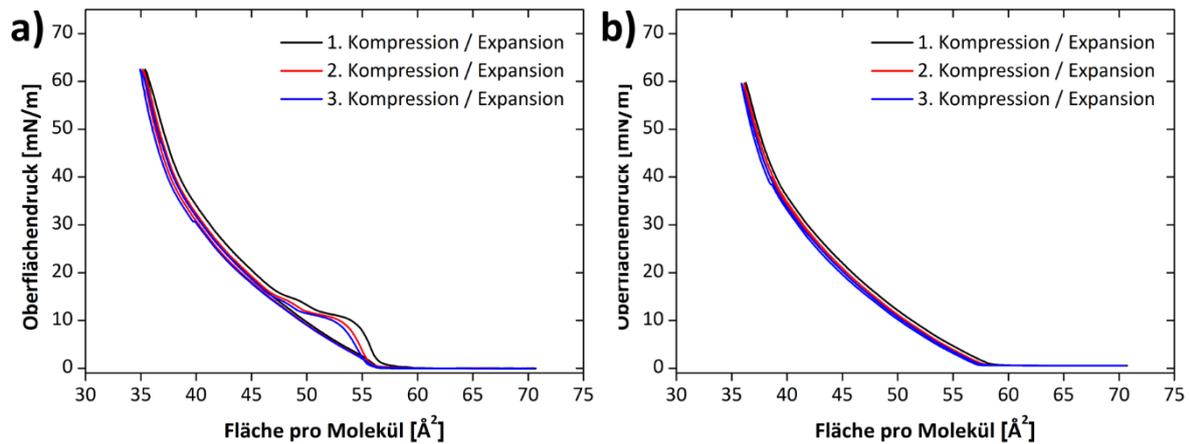


Abbildung 24: Kompressions-/Expansionskurven auf Wasser bei (a) 15 °C und (b) 20 °C

Abbildung 25 zeigt einen Kompressions-/Expansionszyklus bei pH 5 und 8 und bei einer Calciumkonzentration von 20 mM. Bei pH 5 und einer Calciumkonzentration von 20 mM zeigt die Expansionskurve nur eine minimale Hysterese gegenüber der Kompressionskurve. Die Hysterese bei pH 8 ist hingegen deutlich stärker ausgeprägt.

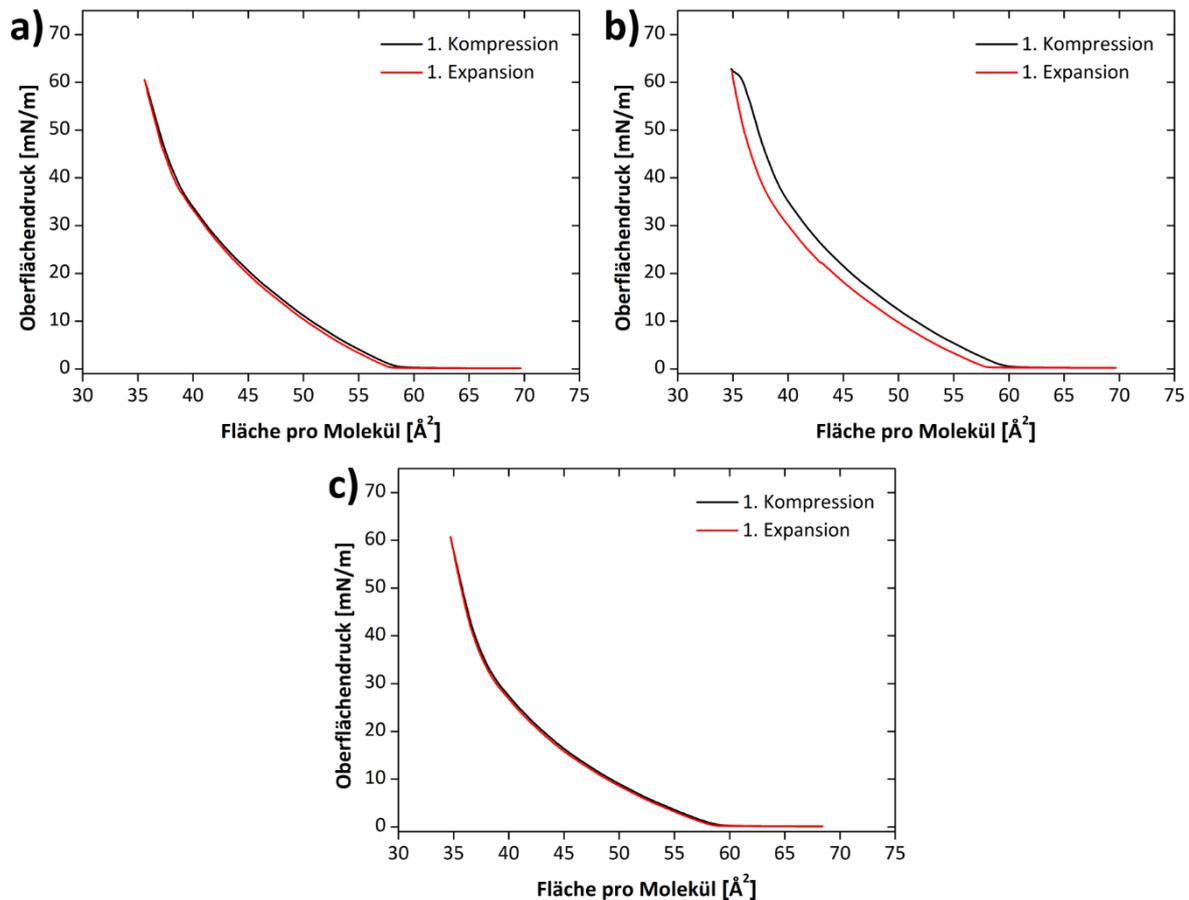
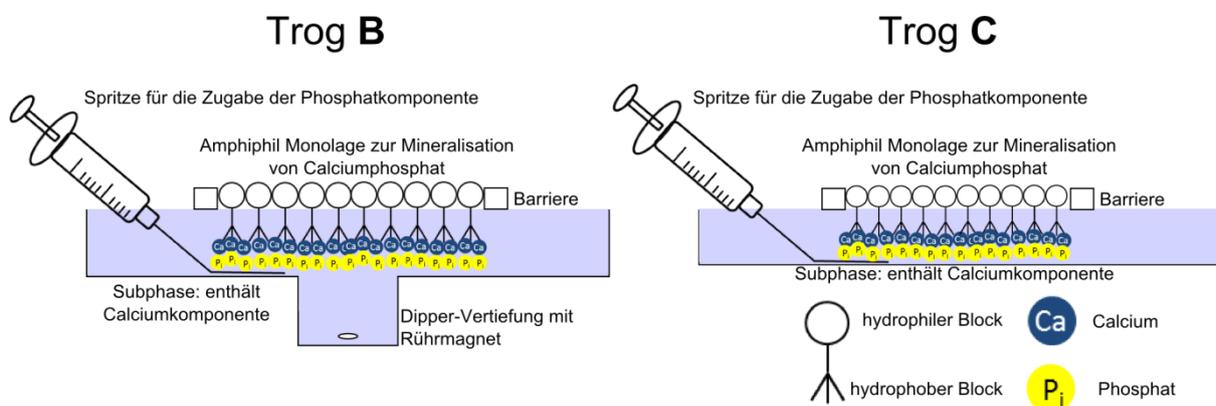


Abbildung 25: Kompressions-/Expansionskurven bei unterschiedlichen Bedingungen. (a) pH 5; (b) bei pH 8 und (c) bei einer Calciumkonzentration von 20 mM.

4.1.2. Mineralisation von Calciumphosphat

Die experimentellen Bedingungen wie beispielsweise die Geometrie des Reaktionsgefäßes, die Rührgeschwindigkeit und das Volumen-zu-Oberflächen Verhältnis haben einen Einfluss auf die Mineralisation.^[8,22] In diesem Teil der Dissertation gilt es herauszufinden, ob ein Amphiphil mit einem kleinen Molekulargewicht und einer hohen Anzahl geladener funktioneller Gruppen in der Lage ist, die Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche zu steuern. Gleichzeitig soll der Effekt verschiedener Trogkonfigurationen auf die Mineralisation untersucht werden. Es soll bestimmt werden, ob technische Parameter wie Volumen-zu-Oberflächen Verhältnis und vor allem die Trogtiefe einen Einfluss auf den Mineralisationsverlauf zeigen.

Aufgrund dessen wurden zwei verschiedene Langmuir Tröge mit unterschiedlichen Volumen, Oberflächen und Geometrien verwendet (Schema 5). Die Mineralisationsexperimente wurden analog zur Mineralisation unterhalb der CHOL-HEM Monolage durchgeführt, nur dass der Oberflächendruck diesmal 40 mN/m betrug und zudem der Einfluss zweier verschiedener Trogkonfigurationen untersucht wurde.



Schema 5: Schematische Darstellung der beiden für die Mineralisationsexperimente genutzten Langmuir Tröge.

Zunächst werden die Experimente gezeigt, die mit Trog **B** durchgeführt wurden. Analog zum vorherigen Kapitel wird zunächst der pH-Verlauf während der Mineralisation gezeigt.

In Abbildung 26 ist der pH-Wert Verlauf für Calciumkonzentrationen von 2 und 20 mM über eine Mineralisationszeit von 6 h gezeigt. Der Ausgangs-pH-Wert bei einer Calciumkonzentration von 2 mM beträgt 6,1. Nach Zugabe der Phosphatkomponente (pH

8,00) steigt dieser innerhalb der ersten 15 min auf 7,4 an und verharrt dort für die nächsten 30 min. Anschließend sinkt der pH-Wert für die folgenden 65 min leicht auf einen pH-Wert von 7,3. Danach fällt der pH-Wert sehr stark, bis schließlich 150 min nach der Phosphatzugabe ein pH-Wert von 7 erreicht ist. Für die restliche Mineralisationszeit ist ein langsames Abfallen auf einen pH-Wert von 6,7 zu sehen.

Der pH-Verlauf für die Calciumkonzentration von 20 mM unterscheidet sich deutlich vom Verlauf bei 2 mM. Der Ausgangs-pH-Wert vor der Zugabe der Phosphatlösung liegt bei 5,6. Nach der Zugabe steigt der pH-Wert auf 6,3 an. Nach ca. 2 min fällt der pH-Wert wieder, bis nach 32 min ein Minimum bei einem pH-Wert von 5,5 beobachtet wird. Anschließend steigt der pH-Wert wieder leicht an, pegelt sich nach 2 h bei einem pH-Wert von 5,8 ein und sinkt bis zum Ende des Experiments auf 5,8.

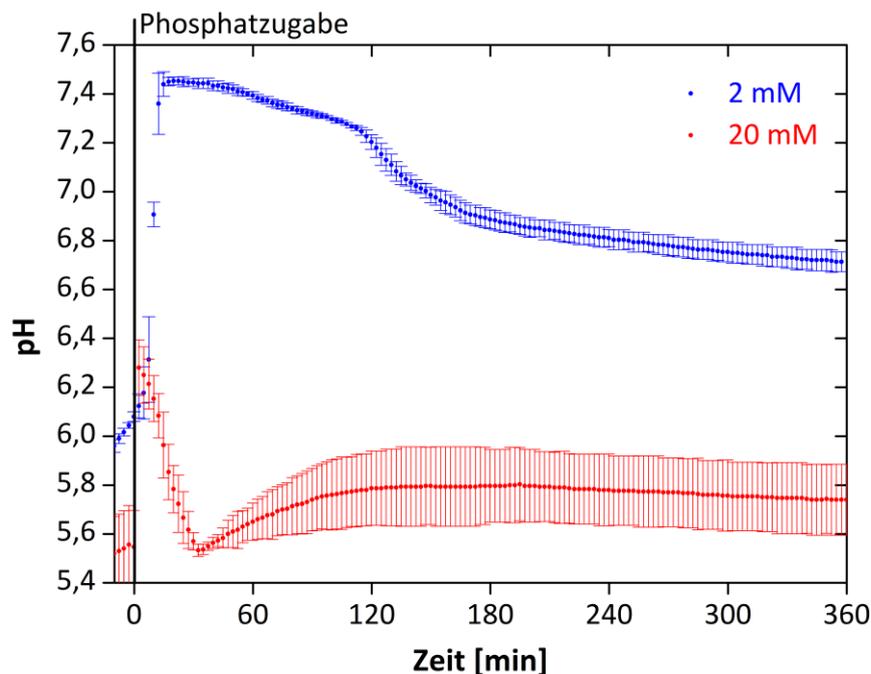


Abbildung 26: pH-Verlauf während der Mineralisation von CP bei verschiedenen Calciumkonzentrationen (2 und 20 mM Calciumnitratlösung) über 6 h. Der Zeitpunkt „0“ kennzeichnet die Zugabe der Phosphatkomponente und den Start der Mineralisation. Die pH-Wert Aufnahme beginnt ca. 10 min vor dem Mineralisationsstart. Es ist nur jeder 16. Datenpunkt dargestellt.

Die Mineralisation von CP wurde anschließend für Calciumkonzentrationen von 2 und 20 mM über einen Zeitraum von 3, 4 und 5 h untersucht. Nach dieser Zeit isolierte Proben wurden mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) analysiert (Abbildung 27). Bei einer Calciumkonzentration von 2 mM zeigen die TEM Bilder nach 3 h Mineralisationszeit zwei

verschiedene Morphologien der Fällungsprodukte. Diese bestehen hauptsächlich aus großen aggregierten Strukturen (ca. 650 x 250 nm), aber auch aus langen dünnen Nadeln (Durchmesser 5-10 nm). Die Nadeln sind nach einer Mineralisationszeit von 4 und 5 h nicht mehr zu beobachten. Die nun vorherrschende Morphologie erinnert an dünne, gefaltete Schichten (ca. 1400 x 800 nm), die augenscheinlich aus individuellen Platten zusammengesetzt sind. Nach einer Mineralisationszeit von 5 h existieren mehr Aggregate als nach 4 h, vermutlich hervorgerufen durch die längere Mineralisationszeit.

Die Proben, die bei einer Calciumkonzentration von 20 mM mineralisiert wurden, unterscheiden sich deutlich von den Proben, die bei einer Calciumkonzentration von 2 mM mineralisiert wurden. Nach einer Mineralisationszeit von 3 h sind nur noch Nadeln vorhanden. Nach 4 h können wattebauschartige, aggregierte Strukturen (500-800 nm) und nach 5 h große Aggregate (> 1000 nm) sowie kleine Partikel (10-60 nm) beobachtet werden.

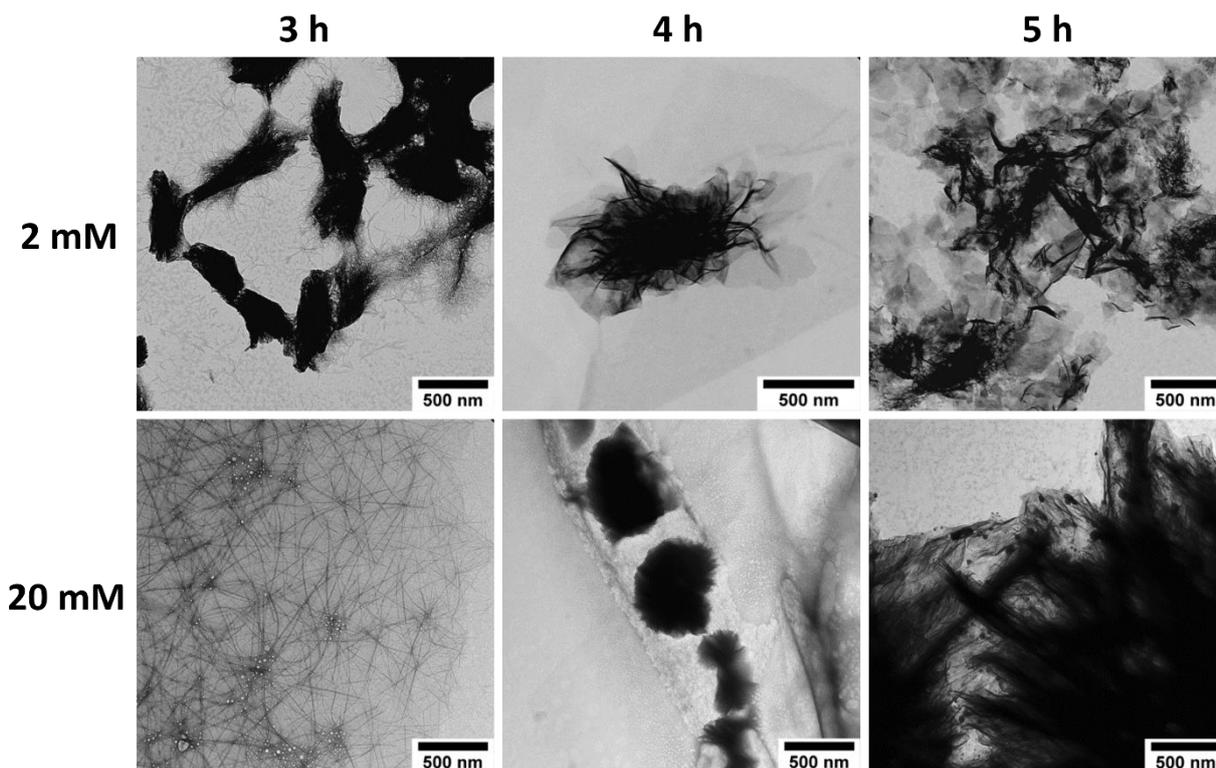


Abbildung 27: TEM Aufnahmen der mineralisierten Filme nach 3, 4 und 5 h bei Calciumkonzentrationen von 2 und 20 mM. Das TEM Bild der Probe, die bei 2 mM über 4 h mineralisiert wurde, wurde mit einer anderen Vergrößerung aufgenommen.

Für Analysen mittels Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) und Rasterkraftmikroskopie (AFM) wurden die mineralisierten Filme auf hydrophobierte Siliciumwafer übertragen. Zwei repräsentative AFM Bilder und die dazugehörigen

Höhenprofile von Proben mineralisiert bei 2 mM über 4 und 5 h sind in Abbildung 28 dargestellt. Die Objekte sehen aus wie gefaltete dünne Schichten, die aufeinanderliegen und stimmen demnach mit den Beobachtungen aus AFM überein.

Die Objekte nach 4 h Mineralisationszeit sind durchschnittlich $1,69 \pm 0,56 \mu\text{m}$ groß. Nach 5 h sind diese mit $2,49 \pm 0,83 \mu\text{m}$ ein wenig größer. Die Filme mineralisiert über 5 h zeigen eine leicht höhere Oberflächenrauigkeit (rms Rauigkeit ca. 125 nm) verglichen mit den Filmen mineralisiert über 4 h (rms Rauigkeit ca. 97 nm).

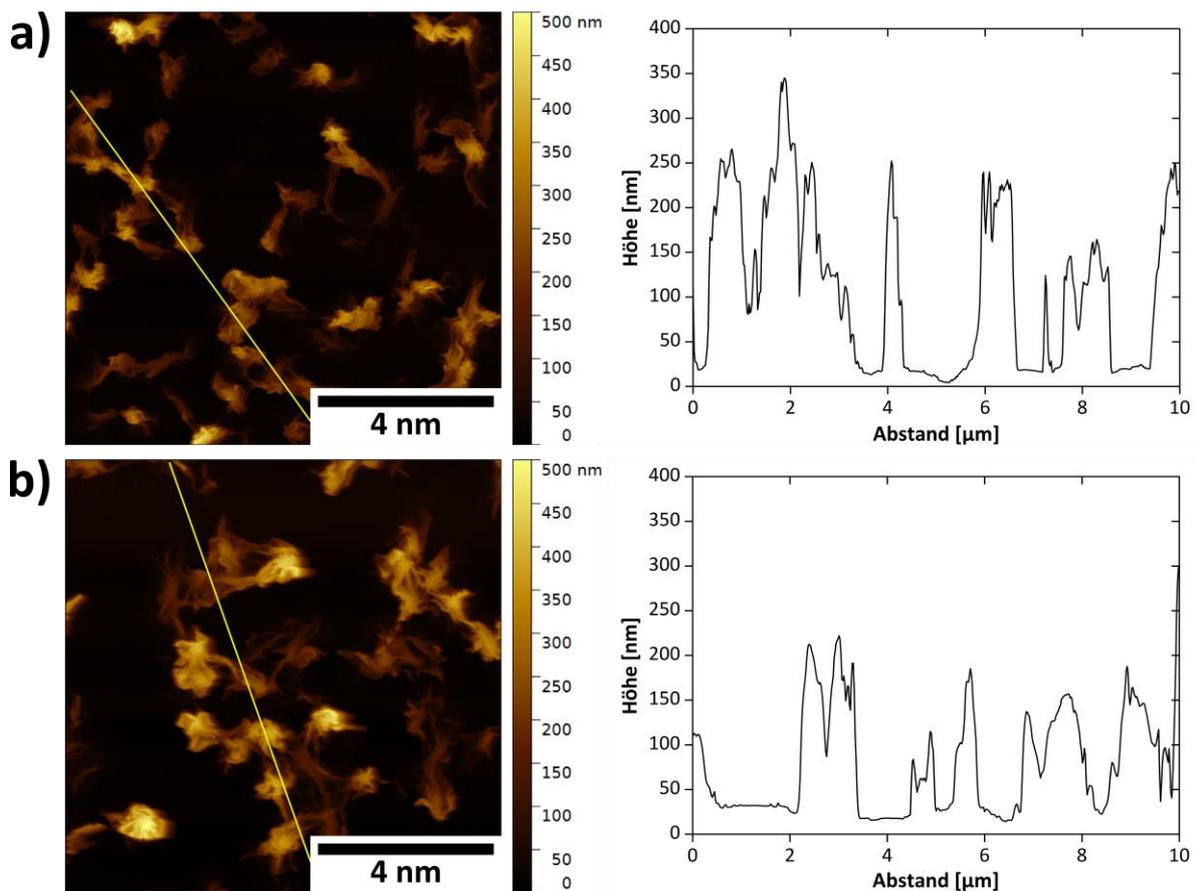


Abbildung 28: AFM Bilder und Höhenprofile von Proben synthetisiert bei Calciumkonzentrationen von 2 mM für (a) 4 h und (b) 5 h. Die gelbe Linie repräsentiert den Bereich, in dem das Höhenprofil erstellt wurde.

In Abbildung 29 sind die XP Spektren exemplarisch für einen bei 20 mM über 5 h mineralisierten Film dargestellt. Die Mineralisation von CP findet lediglich unterhalb einer Amphiphilmonolage statt. Da diese Monolagen nur wenige Nanometer dick sind, ist die Analyse der gebildeten Minerale relativ schwierig. Um ein Überlagern des P 2p Signals mit dem Si Plasmon zu vermeiden (wie beispielsweise in einer vorherigen Studie^[54]), werden SiO_2/Si -Wafer mit einer SiO_2 -Schichtdicke von 30 nm verwendet. Die

Oberflächenzusammensetzung des mineralisierten Films wird durch die Analyse der Elemente mittels Al K α Anregungs-XPS bestimmt. Es werden Photoelektronenpeaks des Sauerstoffs (28,9 Atom-%), Stickstoffs (2,6 Atom-%), Calciums (2,1 Atom-%), Kohlenstoffs (55,0 Atom-%), Phosphors (4,5 Atom-%) und Siliciums (7,0 Atom-%) nachgewiesen. Das Ca/P Verhältnis beträgt 0,5. In der C 1s Region konnten drei Komponenten bei 285,0 eV (C-C, C-H), 287,1 eV (C=O) und bei 289,0 eV (COOH) beobachtet werden, die dem Amphiphil zugeordnet werden können.

Die XPS Daten bestätigen die Bildung von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche, da sowohl Calcium- als auch Phosphor-Signale in den Spektren zu finden sind. Die Bindungsenergien für Ca 2p_{1/2} bei 347,5 eV, Ca 2p_{2/3} bei 350,9 eV und die dazugehörigen P 2p_{1/2} bei 133,6 eV und P 2p_{3/2} bei 134,5 eV sind konsistent mit den Daten für Calciumphosphatverbindungen aus der Literatur.^[8]

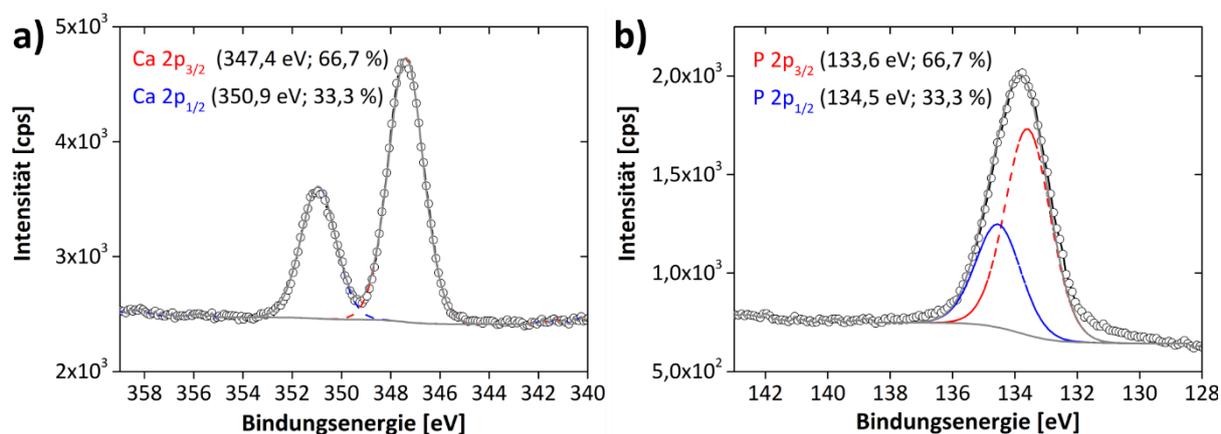


Abbildung 29: (a) Ca 2p und (b) P 2p XP Spektren für Filme mineralisiert bei einer Calciumkonzentration von 20 mM über 5 h.

Tabelle 5: XPS Elementzusammensetzung eines mineralisierten Films auf einer Siliciooberfläche erhalten mittels eines XPS Übersichtsscans.

	Elementzusammensetzung* [Atom-%]					
	O	N	Ca	C	P	Si
A-CHOL_20mM_5h	28,9	2,6	2,1	55,0	4,5	7,0

*Al K α (1486,6 eV) Anregung, Quantifizierung beruht auf der Annahme einer homogenen Verteilung aller Bestandteile innerhalb des analysierten Probenvolumens, Beobachtungsfenster (Field of View (FoV): 300 x 700 μm^2), Eindringtiefe: ca. 10 nm.

Um einen zeitlichen Überblick über den Verlauf der CP Mineralisation zu erhalten, wurden wiederum IRRAS Messungen durchgeführt. Abbildung 30a zeigt IRRAS Spektren bei einer Calciumkonzentration von 20 mM in einem Intervall von 24 min. Diese Spektren wurden bei s-polarisiertem Licht aufgenommen. Die Spektren bei p-polarisiertem Licht zeigen den gleichen Verlauf, jedoch mit einem schlechteren Signal-Rauschverhältnis.

Anhand der Spektren wird ersichtlich, dass während der Mineralisation die Intensitäten der Banden für die O-H Streckschwingung (ca. 3500 cm^{-1}), die O-H Deformationsschwingung (1600 cm^{-1}), die P-O (1018 cm^{-1}) und die P=O (1080 cm^{-1}) Streckschwingung signifikant ansteigen.^[129] In Abbildung 30b ist das Ansteigen der Bande bei einer Wellenzahl von 1018 cm^{-1} für die P-O Streckschwingung gegen die Zeit dargestellt. Innerhalb der ersten Stunde steigt die Amplitude der Bande der P-O Streckschwingung nur leicht an. Die nächsten 60 min hingegen, findet zunächst ein starker Anstieg statt, der gefolgt ist von einem langsamen Anstieg zwischen 136 und 256 min. Die Intensität erreicht nach 268 min schließlich sein Maximum und bleibt für die restliche Messzeit unverändert. Die Auswertung der Banden bei 1080 , 1600 und 3500 cm^{-1} liefern das gleiche Ergebnis, weisen jedoch ein schlechteres Signal-Rauschverhältnis auf.

IRRAS Messungen bei einer Calciumkonzentration von 2 mM zeigen wiederum ein Ansteigen der O-H, P-O und P=O Bandenintensitäten mit fortlaufender Mineralisation. Das Signal-Rauschverhältnis bei diesen Messungen ist sehr gering, sodass eine Quantifizierung nicht möglich ist. Die Ursache dafür liegt höchstwahrscheinlich in der geringen Materialmenge, die bei niedrigen Konzentrationen gebildet wird. Deshalb erfolgen die nachfolgenden Analysen nur für Filme, die bei einer Calciumkonzentration von 20 mM mineralisiert wurden.

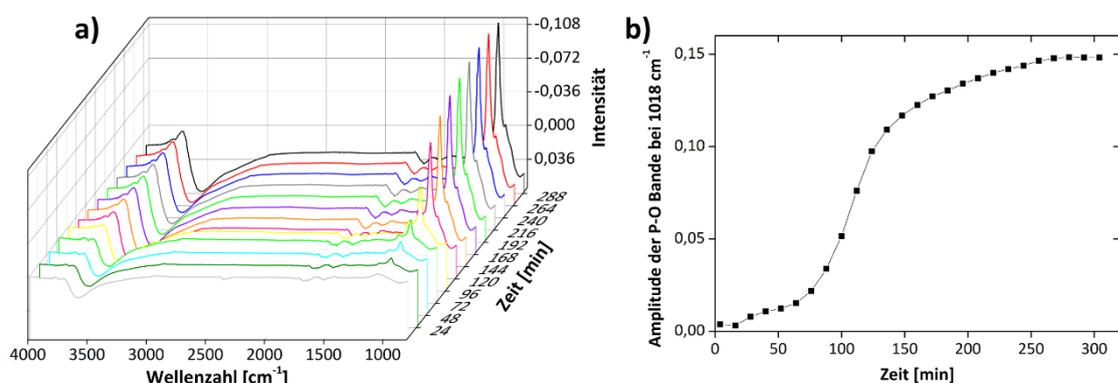


Abbildung 30: IRRAS Messungen mit s-polarisiertem Licht während der Mineralisation von CP bei einer Calciumkonzentration von 20 mM über 5 h. (a) IRRAS Spektren gegen die Reaktionszeit, (b) Amplitude der P-O Bande bei 1018 cm^{-1} gegen die Reaktionszeit.

Um die Unterschiede in den Morphologien und Kristallphasen zu verifizieren, wurden Proben nach 1, 3 und 5 h isoliert und mittels Rastertransmissionselektronenmikroskopie (STEM), energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDXS), Elektronenbeugung (SAED), hochauflösender Transmissionselektronenmikroskopie (HRTEM) und Elektronenenergieverlustspektroskopie (EELS) analysiert.

Die STEM Bilder in Abbildung 31 verdeutlichen die Morphologieveränderung während der Mineralisation. Nach 1 h können hauptsächlich Nadeln, aber auch kleine Partikel und größere Aggregate beobachtet werden. Nach 3 h sind neben den Nadeln und Partikeln auch große Plättchen und dünne, gefaltete Schichten zu sehen. Diese Schichten bilden nach einer Mineralisationszeit von 5 h die dominierende Morphologie. Die Schichten entstehen augenscheinlich durch die Aggregation kleinerer Kompartimente wie Plättchen oder Nadeln. Um den Unterschied in der Kristallstruktur und der (chemischen) Zusammensetzung zu ermitteln, wurden zusätzlich SAED (Abbildung 32), HRTEM (Abbildung 33) und EDXS (Abbildung 34) Messungen durchgeführt. Die Größe der Objekte beobachtet mittels SAED und HRTEM stimmen gut mit den Beobachtungen aus den TEM Messungen überein.

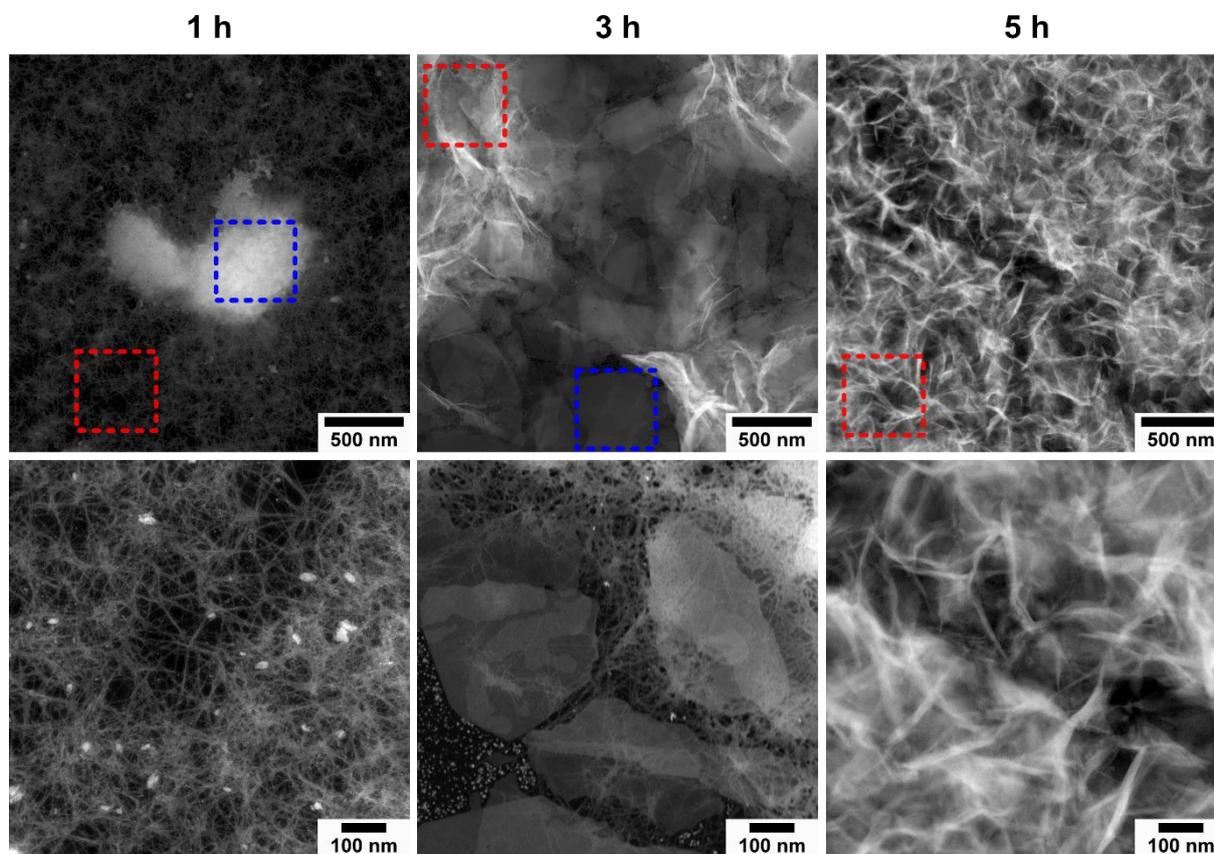


Abbildung 31: STEM Bilder der mineralisierten Monolage bei einer Calciumkonzentration von 20 mM für 1, 3 und 5 h. Obere Reihe: Bilder bei kleinen Vergrößerungen (28000x), untere Reihe: Bilder bei größeren Vergrößerungen (80000x). Die farbigen Quadrate kennzeichnen die Bereiche für die nachfolgenden SAED Bilder (Abbildung 32).

Abbildung 32 zeigt einen Überblick über die Elektronenbeugungsbilder für Mineralisationszeiten von 1, 3 und 5 h. Die Proben, die nach 1 h isoliert wurden, zeigen Elektronenbeugungsbilder mit schwachen Reflexen. Das spricht für eine Mineralphase mit geringer Kristallinität, die schwer eindeutig zu identifizieren ist. Hier muss beachtet werden, dass nach 1 h verschiedene Morphologien, wie beispielsweise kleine Partikel, Nadeln und große Aggregate auftreten. Die Elektronenbeugungsbilder für die Nadeln zeigen die stärksten Reflexe bei Netzebenenabständen (d-Abständen) von ungefähr 2,90; 2,67 und 2,05 Å, die am besten mit Octacalciumphosphat (OCP, ICSD 27050) übereinstimmen. Die Elektronenbeugungsbilder für die größeren Aggregate zeigen signifikant andere Gitterabstände. Die stärksten Reflexe liegen bei d-Abständen von ca. 3,0 und 2,65 Å, die am ehesten zu Brushit (DCPD, ICDD 00-009-0077) passen. Eine eindeutige Zuordnung ist aufgrund der geringen Beugungsintensitäten und des Potentialeffektes, hervorgerufen durch die Vorzugsorientierung, nicht einwandfrei möglich.

Verglichen mit Proben isoliert nach 1 h zeigen die Proben nach 3 h stärkere Reflexe im SAED. Die Reflexe der einzelnen großen Platten können gut als OCP identifiziert werden (Abbildung 32). Die isolierten Platten sind oftmals in [110] Orientierung dargestellt. Dabei handelt es sich außerdem um die Zonenachse, die durch niedrig dosierte hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie (HRTEM) nachgewiesen werden konnte und die der kurzen Dimension der Platten entspricht (Abbildung 33). Zusätzlich konnten über niedrig dosierte HRTEM Kristalle als Hydroxyapatit (HAP, ICDD 00-001-1008) identifiziert werden (beispielsweise in Abbildung 33; in [-110] Orientierung).

Die Elektronenbeugungsbilder für OCP in [110] Orientierung und für HAP in [-110] Orientierung sind ähnlich. Die Beugungspunkte für OCP haben einen Abstand von $1,05 \text{ nm}^{-1}$ in (1-10) Richtung, wohingegen HAP in entsprechender Richtung einen Abstand von $2,13 \text{ nm}^{-1}$ aufweist. Eine Mischung aus OCP und HAP passt auch gut zu dem Elektronenbeugungsbild in Abbildung 32c mit den beobachteten starken Reflexen mit d-Abständen von 5,51; 3,41; 2,81; 2,75; 1,94; 1,83 und 1,70 Å.

Nach 5 h Mineralisationszeit sind lediglich dünne, gefaltete Schichten zu beobachten. Die Elektronenbeugungsbilder dieser Schichten zeigen ein ähnliches Beugungsmuster wie die Proben, die über 3 h mineralisiert wurden und einem Gemisch aus OCP und HAP zugeordnet wurden. Niedrig dosierte HRTEM Bilder von Platten, die sehr häufig vertikal auf dem

Trägerfilm stehen, zeigen 2-5 Gitternetzlinien mit d-Abständen von 1,7-1,8 nm. Diese Beobachtungen sind analog zu Kapitel 3 und die Abstände können der {100} Gitterebene in OCP zugeordnet werden (Abbildung 33). Ein paar große, isolierte und horizontale Platten und Nadeln können als OCP in [110] Orientierung mit (1-10) Gitternetzlinien parallel zu der Hauptkante des Kristalls identifiziert werden.

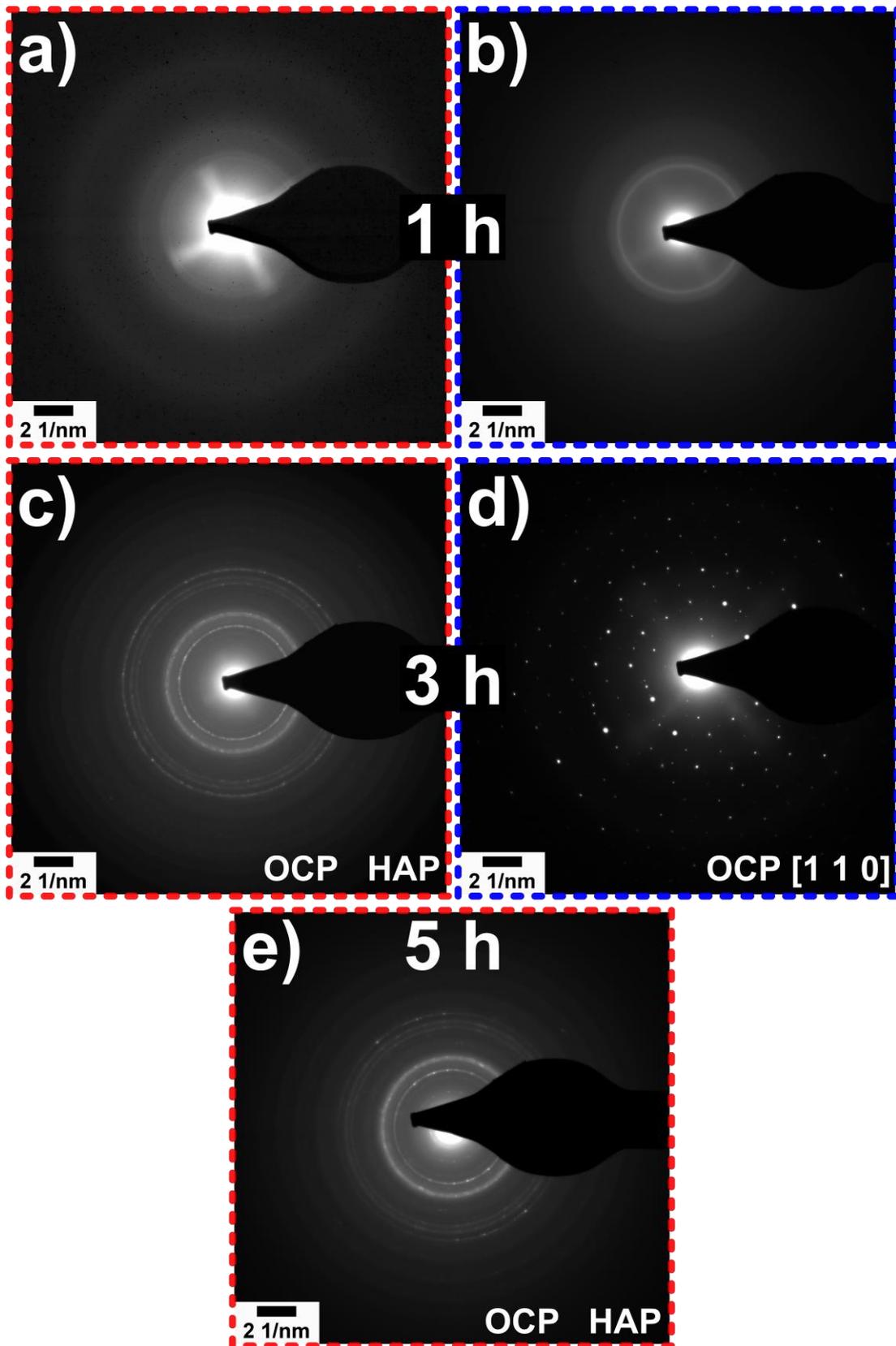


Abbildung 32: SAED Bilder von Filmen mineralisiert bei einer Calciumkonzentration von 20 mM für 1, 3 und 5 h. Die Beugungsbilder wurden für solche Regionen aufgenommen, die in den STEM Bildern mit einem farbigen Quadrat gekennzeichnet sind (Abbildung 31).

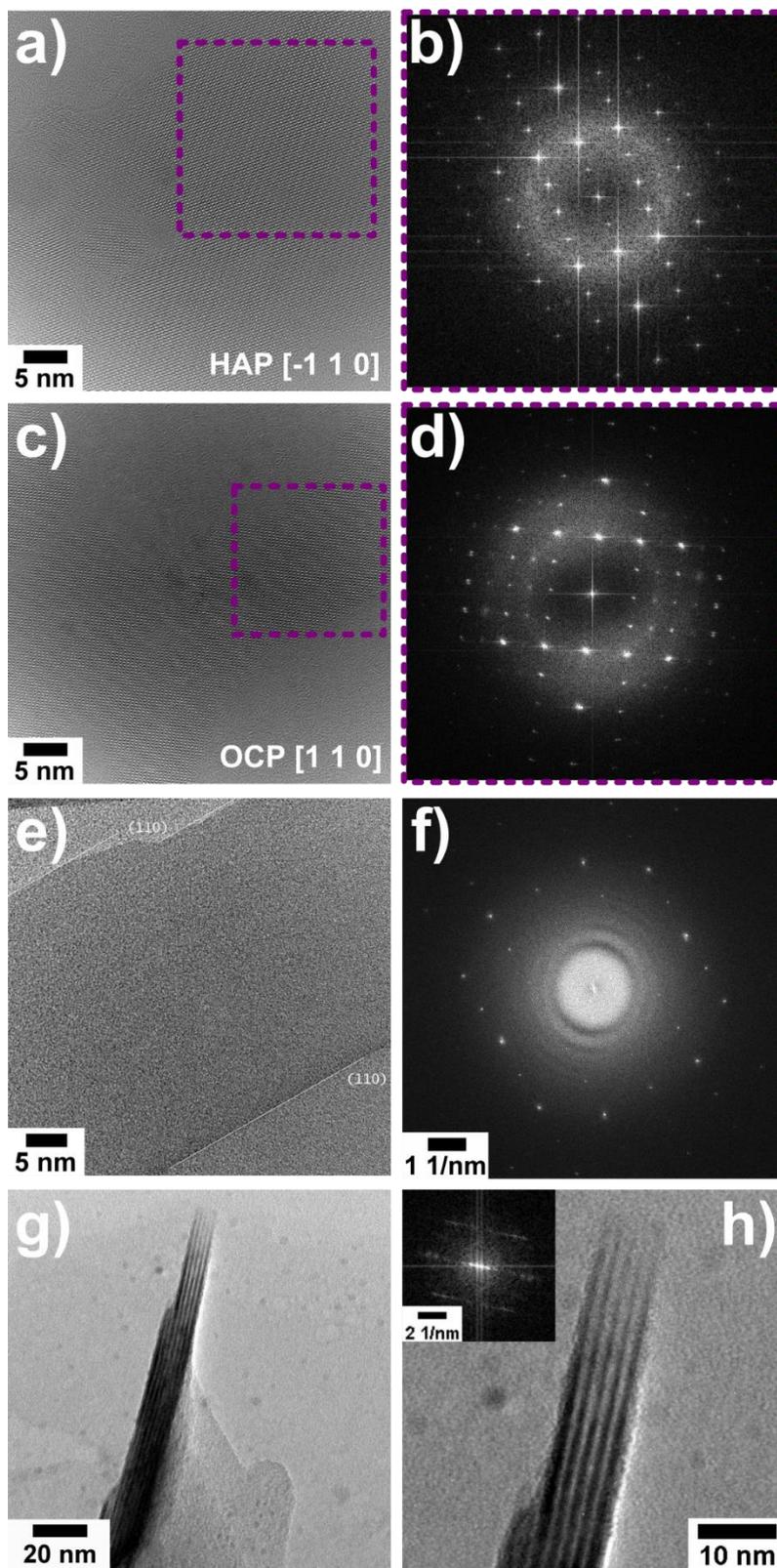


Abbildung 33: HRTEM Bilder (a, c) und dazugehörige Fouriertransformations- (FT) Bilder (b, d) von Filmen mineralisiert bei einer Calciumkonzentration von 20 mM über 5 h. Die violetten Quadrate kennzeichnen den Bereich, in dem die FT durchgeführt wurde. Hellfeld TEM Bilder (e) und FT Bilder (f) für horizontale OCP Platten. Hellfeld TEM Bilder (g), vergrößerte Ansicht und FT (h) für senkrecht stehende OCP Platten.

Mittels EDXS Messungen konnte das Ca/P Verhältnis für die verschiedenen Mineralisationszeiten bestimmt werden (Abbildung 34). Das Ca/P Verhältnis nach 1 h liegt bei $2,35 \pm 0,23$. Das bedeutet, dass deutlich mehr Calcium in den Kristall eingebaut wurde als Phosphat. Nach 3 h Mineralisationszeit sank der Calciumwert und somit das Ca/P Verhältnis auf $1,41 \pm 0,31$ und liegt nach 5 h bei $1,58 \pm 0,19$. Die nach einer Mineralisationszeit von 3 und 5 h ermittelten Ca/P Verhältnisse sind innerhalb der Fehlergrenzen identisch.

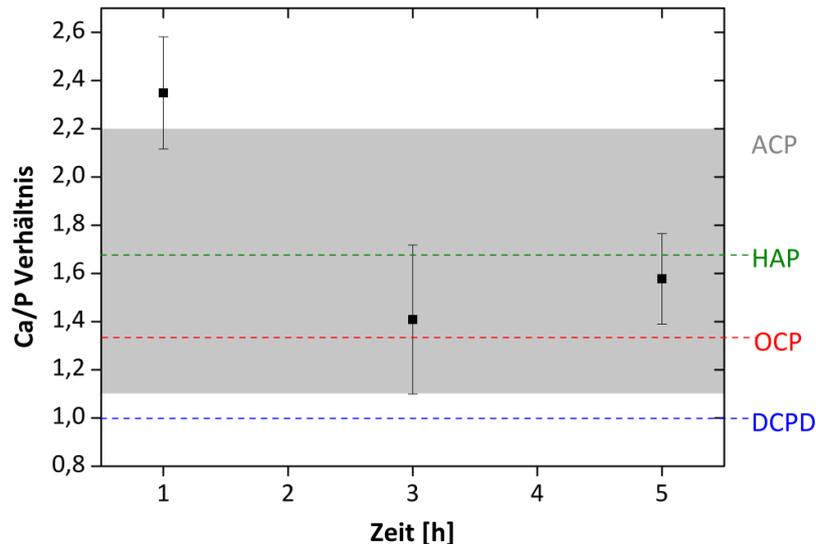


Abbildung 34: Durchschnittliche Ca/P Verhältnisse mit Standardabweichungen für mehrere EDXS Messungen von Proben isoliert nach 1 h (7 Messungen), 3 h (8 Messungen) und 5 h (11 Messungen). Die farbigen Linien und die schattierte Fläche repräsentieren die Ca/P Verhältnisse aus der Literatur für HAP, OCP, DCPD und ACP.^[125]

Zusätzlich durchgeführte Energieverlustspektroskopie (EELS) Messungen bestätigten die Anwesenheit von Calcium und Sauerstoff, konnten aber aufgrund des schwachen Signal-zu-Rausch-Verhältnisses keine weiteren Einblicke gewähren (Daten nicht gezeigt).

4.2 Diskussion

4.2.1 Temperatureinfluss auf das Phasenverhalten

Bis heute existieren nur wenige Studien über Langmuirmonolagen von dendritischen Amphiphilen mit mehreren Carboxylgruppen als hydrophile Kopfgruppe. Zwei Studien beschreiben Amphiphile mit mehreren Alkylketten als hydrophoben Block und entweder ein Newkome Dendron (drei Carbonsäuren)^[160] oder ein Diethylentriaminpentaessigsäureverzweigtes Dendron (vier Carbonsäuren)^[161] als hydrophile Kopfgruppe. Eine weitere Studie

befasste sich mit einem symmetrischen dendritischen Amphiphil mit einem hydrophoben Calixaren Kern und zwei hydrophilen Newkome Kopfgruppen.^[35]

Die Untersuchung des Phasenerhaltens des Amphiphils bei verschiedenen Subphasentemperaturen zeigt die Bildung eines stabilen monomolekularen Films an der Wasser/Luft-Grenzfläche (Abbildung 21). Bei Temperaturen über 19 °C zeigt das Amphiphil lediglich einen Phasenübergang vom 2D gasanalogen Zustand in den flüssiganalogen Zustand. Dieser Phasenübergang verschiebt sich mit steigender Temperatur zu kleineren Flächen. Das Amphiphil kann also bei tiefen Temperaturen weiter komprimiert werden als bei hohen Temperaturen. Die flüssiganaloge Phase ist durch ihre hohe Kompressibilität gekennzeichnet. Ob es sich bei der flüssiganalogen Phase um eine expandierte oder kondensierte Phase handelt, konnte nicht geklärt werden.

Bei Temperaturen unter 20 °C findet eine zusätzliche Phasenumwandlung statt, die durch einen Ein- oder Zweistufenprozess gekennzeichnet ist. Die Kompressibilität dieser mittleren Phase ist relativ gering, wie es normalerweise für kondensierte Phasen beobachtet wird. Eine Phasenumwandlung in der Reihenfolge gas-kondensiert-flüssig ist unwahrscheinlich. Eine solche Phasenumwandlung würde bedeuten, dass das System von einer ungeordneten in eine hoch geordnete und dann in eine weniger geordnete Konformation wechselt.

Dies ausgebildeten Plateaus könnten durch die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Amid- und Carboxylgruppen oder zwischen den protonierten und deprotonierten Carboxylgruppen innerhalb des hydrophilen Blocks hervorgerufen werden. Grobe Abschätzungen mittels Marvin Sketch^[162] (Abbildung 35) zeigen in der Tat, dass bei pH 5 (ungefährer pH-Wert der Subphase) ca. 25% des Amphiphils eine protonierte und zwei deprotonierte Carboxylatgruppen enthalten. Bei den restlichen 75% sind alle drei Carboxylatgruppen deprotoniert. Diese Beobachtungen stimmen mit einer Studie überein, bei der ähnliche dendritische Newkome-Type Carbonsäuren verwendet wurden und ein pK_s von ungefähr 4 bestimmt wurde.^[163] Das Stickstoffatom des Amids ist unter den verwendeten experimentellen Gegebenheiten nie deprotoniert und trägt immer ein Proton. Die Kalkulationen dienen nur als ungefährender Ansatzpunkt, da wie bereits in Kapitel 3.2.2 beschrieben der pH-Wert an der Grenzfläche um einiges tiefer ist als in der Subphase.

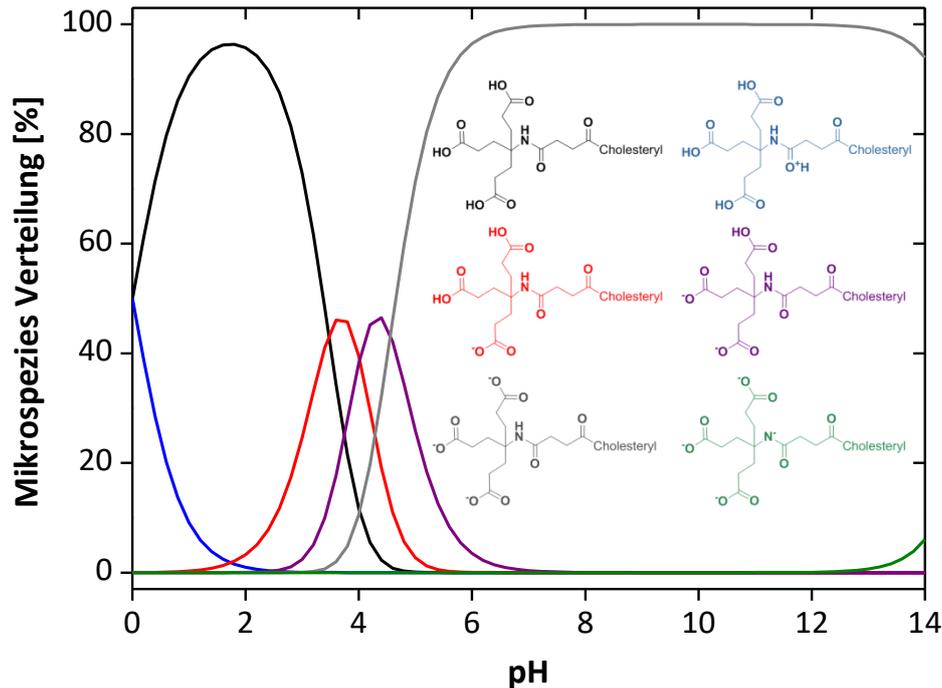


Abbildung 35: Verteilung der Mikrospezies des Amphiphils bei pH-Werten zwischen 0 und 14.^[162]

Die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen könnte zu einer relativ dichten Anordnung benachbarter Moleküle führen, sodass diese weniger Platz beanspruchen und eine schlechtere Kompressibilität der Monolage vorliegt. Das ist insbesondere bei tieferen Temperaturen der Fall. Bei höheren Temperaturen ist die Beweglichkeit der Moleküle aufgrund der höheren Energie größer, wodurch die Wasserstoffbrückenbindungen vermutlich zum Teil gelockert beziehungsweise gebrochen werden. Demnach ist eine größere Fläche zur Anordnung der Moleküle an der Grenzfläche notwendig. Das führt auch zu einer Erhöhung des flüssigähnlichen Verhaltens der Moleküle an der Oberfläche. Die Anwesenheit eines Quasi-Plateaus bei tiefen Temperaturen, hervorgerufen durch die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen, wurde bereits zuvor beschrieben.^[148,164]

4.2.2 Einfluss des pH-Wertes auf das Phasenverhalten

Der pH-Wert der Subphase scheint das Phasenverhalten des Amphiphils weniger stark zu beeinflussen als die Temperatur der Subphase. Die Isothermen zeigen bei pH-Werten zwischen 5 und 8 und auf einer reinen Wassersubphase bei 20 °C das gleiche Phasenverhalten (Abbildung 21 und 22). Die Ladung des Amphiphils hat also in diesem pH-Wert Bereich keinen Einfluss auf die Eigenschaften der Monolage. Den Kalkulationen mit Marvin Sketch (Abbildung

35) zu Folge müsste bei pH 8, 9 und 10 der Protonierungsgrad des Amphiphils identisch sein. Anhand der aufgenommenen Isothermen lässt sich feststellen, dass bei pH-Werten über 8 die Lösung der Amphiphilmoleküle in der Subphase erfolgt. Es handelt sich bei diesen Abschätzungen um einen vereinfachten Ansatz. Der eigentliche pH-Wert der Subphase speziell in der Nähe der Grenzfläche kann nur schwer ermittelt werden. Ausgehend von den experimentellen Ergebnissen und Beobachtungen aus der Literatur^[165] ist es wahrscheinlich, dass das Amphiphil bei höheren pH-Werten weniger protoniert ist. Die zunehmende Deprotonierung der hydrophilen Kopfgruppe zwischen pH-Werten von 8 und 9 führt zu einer besseren Wasserlöslichkeit des Amphiphils.

Wie bereits zuvor beschrieben, ist der pH-Wert an der Grenzfläche deutlich niedriger als in der Subphase. Vermutlich überwiegt bei pH-Werten zwischen 5 und 8 die neutrale Spezies gegenüber der deprotonierten Spezies und demnach kann kein Unterschied im Phasenverhalten beobachtet werden. Dieses Phänomen wurde bereits ausführlich in Kapitel 3.2.2 erläutert. Bei pH-Werten über 8 überwiegt hingegen die deprotonierte Spezies, wodurch sich das Amphiphil aufgrund der zunehmenden Abstoßung der Carboxylatgruppen in der Subphase löst. Bei einem pH-Wert von 9 sind offenbar nicht alle Carboxylgruppen deprotoniert, sodass die verbleibenden Amphiphilmoleküle an der Oberfläche in der Lage sind einen monomolekularen Film zu bilden. Diese Isotherme ist jedoch zu kleineren Flächen verschoben, da ungefähr 50 % der Amphiphilmoleküle ($A_0=19 \text{ \AA}^2$ bei pH-Wert 9 und $A_0=34 \text{ \AA}^2$ bei pH-Wert 5, 6, 7 und 8) gelöst sind. Bei pH 10 ist hingegen der größte Teil der Amphiphilmoleküle in der Subphase gelöst und demnach kann keine Isotherme mehr bestimmt werden. Das beweist eine zunehmende Wasserlöslichkeit ab einem pH-Wert von 9, die zu einer Verschiebung der Isothermen zu kleineren Flächen und zur kompletten Wasserlöslichkeit bei pH-Wert 10 führt (Abbildung 22).

4.2.3 Einfluss der Calciumkonzentration auf das Phasenverhalten

Die π -A Isothermen des Amphiphils bei Calciumkonzentrationen von 2 und 20 mM zeigen den gleichen Kurvenverlauf. Wird die Calciumkonzentration auf 200 mM erhöht, ist der Filmkollaps um etwa 20 mN/m zu kleineren Oberflächendrücken verschoben. Weiterhin ist in Anwesenheit von Calcium die Isotherme verglichen mit der reinen Wassersubphase zu minimal kleineren Flächen verschoben. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass zweiwertige

Metallionen, wie beispielsweise Ca^{2+} -Ionen, die Fähigkeit haben, Amphiphilmonolagen aufgrund ihrer Wechselwirkungen mit zwei Carboxylatgruppen zu stabilisieren.^[166,167] In unserem Fall kann diese Art von Stabilisierung nicht beobachtet werden.

Akpo et al.^[160] untersuchten das Phasenverhalten verschiedener mono- und bidendritischer Amphiphile. Sie verwendeten eine 0,1 mM Calciumchlorid Subphase und beobachteten für einige Amphiphile sowohl ein Ansteigen als auch ein Abfallen des Kollapsdrucks, verglichen mit den Isothermen aufgenommen auf reinem Wasser. Andere Amphiphile kollabierten bei dem gleichen Druck, unabhängig davon, ob es sich bei der Subphase um 0,1 mM Calciumchloridlösung oder reines Wasser handelte. Die Ursache dafür sahen die Autoren in den strukturellen Unterschieden des hydrophilen und hydrophoben Blocks sowie der Spacereinheit ihrer Amphiphile.^[160]

Die in dieser Studie verwendete Calciumkonzentration ist um einiges höher. Für relativ kleine Calciumkonzentrationen von 2 und 20 mM kann kein Einfluss auf das Phasenverhalten beobachtet werden. Bei höheren Calciumkonzentrationen von 200 mM findet der Filmkollaps deutlich früher statt. Das spricht für eine Destabilisierung des Filmes.

Diese Destabilisierung kann erklärt werden, wenn man annimmt das der Deprotonierungsgrad der Carboxylgruppen mit steigender Calciumkonzentration zu nimmt (siehe Kapitel 3.2.3 für detaillierte Erklärungen). Das A-CHOL weist in Anwesenheit der Ca^{2+} -Ionen drei deprotonierte Carboxylgruppen pro hydrophile Kopfgruppe auf. Die deprotonierten Carboxylgruppen können mittels Komplexbildung mit den Ca^{2+} -Ionen verbrücken. Diese Verbrückung wird aber wahrscheinlich hauptsächlich innerhalb der deprotonierten Carboxylgruppen einer hydrophilen Kopfgruppe auftreten und nur vereinzelt zwischen benachbarten hydrophilen Kopfgruppen. Die minimale Verbrückung benachbarter hydrophiler Kopfgruppen erklärt die Verschiebung der Isothermen zu kleineren Flächen auf der Calciumsubphase verglichen zur reinen Wassersubphase. In Abwesenheit der Ca^{2+} -Ionen überwiegt auf der reinen Wassersubphase die Spezies mit protonierten Carboxylgruppen. Aufgrund der fehlenden elektrostatischen Abstoßungskräfte kann der Film leichter komprimiert werden, kollabiert erst bei höheren Oberflächendrücken und ist somit stabiler. Mit steigender Calciumkonzentration nimmt zwar neben dem Deprotonierungsgrad der Carboxylgruppen auch die Verbrückung zu, jedoch scheinen die zunehmenden elektrostatischen Abstoßungskräfte zu überwiegen. Diese zunehmenden elektrostatischen Abstoßungskräfte führen zur zunehmenden Instabilität und zum früheren Filmkollaps.

4.2.4 Untersuchung der Filmstabilität

Bei hohen Temperaturen weisen die Kompressions-/Expansionskurven des A-CHOL keine Hysterese auf und sind demnach ein Indiz für sehr stabile und flexible Filme (Abbildung 25). Die bei tiefen Temperaturen beobachteten Hysterese können durch die langsame Neuordnung des Wasserstoffbrückennetzwerkes zwischen den einzelnen Molekülen hervorgerufen werden. Das Lösen einiger Amphiphilmoleküle in der Subphase oder die partielle Bildung irreversibler Multilag kann ausgeschlossen werden. Die Bildung von Multilag kann durch die Reorganisation der Wasserstoffbrückenbindungen stattfinden, ohne dabei einzelne Moleküle aus der Anordnung zu entfernen. Demnach sollte dieser Prozess weniger Energie verbrauchen als das Lösen eines schwer wasserlöslichen Moleküls. Monolagen tendieren zur Multilagbildung, sobald die Carboxylatgruppen protoniert sind.^[54] Obwohl diese Studie sich auf den Effekt des pH-Wertes und nicht der Temperatur fokussiert, ist der Ansatz konzeptuell der Gleiche. Die Änderung des pH-Wertes verändert die Anzahl der Wasserstoffbrückenbindungen, wodurch diese nicht mehr zur Stabilisierung der Monolage beitragen können. Das Lösen einiger Amphiphilmoleküle in der Subphase infolge aufeinanderfolgender Kompressions/Expansionszyklen ist nicht untypisch.^[44,54,122,147] Dennoch zeigen die Daten, dass der Film sehr stabil ist.

Die starke Temperaturabhängigkeit des Phasenverhaltens eines dendritischen Amphiphils wurde bereits von Bertin et al. gezeigt.^[161] Sie untersuchten die Bildung von Langmuirfilmen verschiedener Diethylentriaminpentaessigsäure-verzweigter Dendrons und beobachteten die Bildung von Quasi-Plateaus bei hohen Temperaturen und nicht wie in dieser Studie bei tiefen Temperaturen. Die von Bertin et al. verwendeten Dendrons zeigten verglichen mit dem hier verwendeten Dendron eine deutlich stärkere Temperaturabhängigkeit. Mit steigender Temperatur sank der Kollapsdruck drastisch von ca. 50 mN/m bei 22 °C auf ungefähr 34 mN/m bei 32 °C. Beim A-CHOL liegt der Kollapsdruck für alle Temperaturen annähernd in der gleichen Region. Die Autoren untersuchten außerdem die Filmstabilität mittels Kompressions-/Expansionskurven. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen zeigten die Kurven ohne Plateau fast keine Hysterese und die Kurven mit Plateaus analog zu unserer Studie nur ein Plateau in den Kompressionskurven und nicht in den Expansionskurven.^[161]

Die Kompressions-/Expansionskurven bei pH 6 und bei einer Calciumkonzentration von 20 mM liegen fast perfekt übereinander und weisen so gut wie keine Hysterese auf. Das bedeutet, dass der Film sich schnell reorganisieren kann. Die minimale Hysterese wird wahrscheinlich durch den schnellen Wechsel von der Kompression in die Expansion hervorgerufen. Bei einem pH-Wert von 8 hingegen ist eine deutliche Hysterese zwischen der Kompressions- und Expansionskurve ersichtlich. Der Grund dafür liegt vermutlich darin, dass mit zunehmenden pH-Wert auch die Deprotonierung der Carboxylgruppen und damit die elektrostatische Abstoßung zunimmt. Weiterhin nimmt mit steigenden pH-Wert die Wasserlöslichkeit des Amphiphils zu. So lösen sich bei pH 8 bei der Filmkompression einige Amphiphilmoleküle in der Subphase, wodurch die Expansionskurve zu kleineren Flächen verschoben wird. Da bei pH 6 die Carboxylgruppen hauptsächlich in der protonierten Form vorliegen, finden keine elektrostatische Abstoßung zwischen den hydrophilen Kopfgruppen statt. Dadurch findet auch keine Lösung der Amphiphile in der Subphase statt und somit ist auch keine Hysterese beobachtbar. Bei einer Calciumkonzentration von 20 mM liegen die Carboxylgruppen ähnlich wie bei pH 8 in der deprotonierten Form vor, wobei die zusätzlich auftretende Komplexbildung mit den Ca^{2+} -Ionen für eine Stabilisierung des Films sorgt. Aufgrund dessen ist in diesem Fall keine Hysterese zu beobachten.

4.2.5 Mineralisation von Calciumphosphat

In diesem Teil der Dissertation sollen die Effekte eines dendritischen Amphiphils mit mehreren Carboxylgruppen in räumlicher Nähe (Schema 4) auf die Mineralisation von CP untersucht werden. Weiterhin sollte der Einfluss durch Änderungen des experimentellen Aufbaus (verschiedene Tröge, Subphasenvolumen, Oberflächen und Geometrien, Schema 5) auf die Mineralisation analysiert werden.

Ähnlich zu den Beobachtungen in Kapitel 3.2.5 erfolgt eine nicht lineare Anreicherung der Phosphationen über mehrere Stufen unterhalb der Monolage (Abbildung 30). Die verschiedenen Morphologien wurden mittels TEM (Abbildung 27 und Abbildung 33), AFM (Abbildung 28) und STEM (Abbildung 31) untersucht. Nach einer Mineralisationszeit von 1 h sind vorwiegend Nadeln und Plättchen, nach 3 h zusätzlich zu diesen, größere „gefaltete dünne Schichten“ und nach 5 h nur noch letztere beobachtbar. Die gefalteten dünnen Schichten scheinen die stabilste Morphologie unter den gegebenen Bedingungen zu sein.

Diese Morphologien sind für ausgefälltes CP unter biomimetischen Bedingungen durchaus üblich. Sowohl Nadeln^[22,26,28,46] als auch Plättchen^[52,158,168,169] und gefaltete Schichten^[28,54,151,152] wurden bereits des Öfteren beschrieben. Junginger et al. mineralisierten CP unterhalb einer Monolage aus einem basischen Blockcopolymer. Sie fanden Netzwerke aus Nadeln ähnlich zu unseren in Abbildung 27 und Abbildung 33.^[46]

Ähnlich zu den von uns beobachteten dünnen gefalteten Schichten fanden Kollmann et al. bei der Untersuchung von CP-Gelatine Nanokomposite die gleichen Agglomerate. Dabei wurden die Agglomerate mit steigender Gelatine Konzentration größer und wurden wie in unserer Studie als Gemisch aus OCP und HAP identifiziert.^[170]

Eine Studie von Ofir et al. zeigt ebenfalls eine ähnliche Morphologie bei der Untersuchung des Einflusses verschiedener Polyelektrolyte auf die Mineralisation von CP. Im XRD fanden Sie die für HAP typischen Reflexe. Mittels Elektronenbeugung konnten sie jedoch auch OCP Plättchen nachweisen. Ähnlich zu unseren Ergebnissen beobachteten sie eine kristalline Phase bestehend aus HAP und OCP. Zusätzlich beschrieben sie die Abhängigkeit der Zusammensetzung und Struktur des gebildeten Minerals von der Temperatur, dem pH, der Konzentration der Reaktanten und von Verunreinigungen.^[151]

Die Kristallographie der Niederschläge wurde in der vorliegenden Arbeit mittels SAED (Abbildung 32) und HRTEM (Abbildung 33) beurteilt. In allen Fällen wurde eine amorphe Phase gebildet, wobei möglicherweise auch DCPD in den Proben nach 1 h Mineralisationszeit vorlag. Die Proben nach 3 und 5 h bestehen größtenteils aus OCP und einer geringen Menge an HAP. Die mittels EDXS bestimmten Ca/P Verhältnisse stimmen mit diesen Phasenumwandlungen überein (Abbildung 34).

Die Ergebnisse zeigen, dass es sich bei der Mineralisation von CP um einen mehrstufigen Prozess handelt. Wie bereits im vorherigen Kapitel beschrieben, geht dieses meist von einer amorphen Vorläuferphase aus, die sich über DCPD zu OCP und schließlich zu HAP umwandeln kann.^[22,28,71,153]

Ein Beispiel dafür lieferten Zhang et al., die ebenfalls die Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche unterhalb einer negativ geladenen Monolage untersuchten. Sie schlugen einen Reaktionsweg für die Mineralisation von CP vor, ausgehend von einer amorphen Phase, welche sich zunächst über DCPD in HAP umwandelte.^[48] Dey et al. präsentierten ein verfeinertes Mineralisationsmodell für eine negativ geladene Monolage,

welches wiederum mit einer amorphen Vorläuferphase startet und schließlich in carbonathaltigen HAP umgewandelt wird.^[47]

Das Amphiphil A-CHOL ist negativ geladen und sorgt aufgrund der elektrostatischen Anziehung für eine Anreicherung von Calciumionen unterhalb der Monoschicht. Diese sorgen wiederum für die elektrostatische Anziehung der Phosphationen, wodurch die Fällung von CP initiiert wird. Für das hier untersuchte Amphiphil wird ein mehrstufiger Kristallisationsprozess von CP unterhalb der amphiphilen Monolage postuliert. Dieser geht von einer amorphen Vorläuferphase aus, welche über DCPD in eine Mischung von OCP und HAP umgewandelt wird. Solche mehrstufigen Prozesse über eine amorphe Vorläuferphase bis hin zur kristallinen Phase sind für CP und für Calciumcarbonat bekannt.^[7,17,28,30,48,151,171,172] Diese Reaktionswege stimmen außerdem mit der Ostwaldregel überein.^[16,42]

Diese Phasenumwandlungen spiegeln sich auch in den pH-Kurven wieder. Die Mineralisation von CP bei einer Calciumkonzentration von 2 mM zeigt drei Stufen in der pH-Kurve. Ein solches dreistufiges Verhalten beobachten auch Habraken et al.^[30], bei der Aufnahme des pH-Wertes während der Mineralisation von CP in einer Tris-gepufferten Speichellösung. Mittels Cryo-TEM zeigten sie, dass diese Stufen eine Änderung der Morphologie und damit eine Phasenumwandlung anzeigen. Vor der ersten Stufe beobachtete sie vorwiegend Kugeln, zwischen der ersten und zweiten Stufe hauptsächlich Bänder (ähnlich zu unseren beobachteten Nadeln), und danach vorwiegend Plättchen.^[30] Die verwendeten Calcium- und Phosphatkonzentrationen in ihrer Studie betragen 5,88 beziehungsweise 4,13 mM und in unserer Studie 2 mM. Die verwendeten Konzentrationen sind ähnlich und wir schließen daraus, dass zumindest bei niedrigen Konzentrationen mehrere komplexe Phasen- und Morphologieumwandlungen stattfinden bevor das finale CP nach mehreren Stunden gebildet wird.

Die pH-Kurven während der Mineralisation von CP bei einer Calciumkonzentration von 20 mM unterscheiden sich deutlich (Abbildung 26). Das unterstützt die vorher gemachte Aussage, dass niedrige und höhere Konzentrationsbereiche nicht einfach miteinander verglichen werden können. Aufgrund der hohen Übersättigung der Subphase kommt es nach Zugabe der Phosphatkomponente sofort zur Fällung von CP. Der leichte Anstieg nach einer Reaktionszeit von 30 min wird vermutlich durch das Wiederauflösen einiger ACP Kristalle und gleichzeitiger Erhöhung der Phosphationenkonzentration verursacht. Bei einer Phosphationenkonzentration von 20 mM wird die Lösung effizienter gepuffert als bei einer

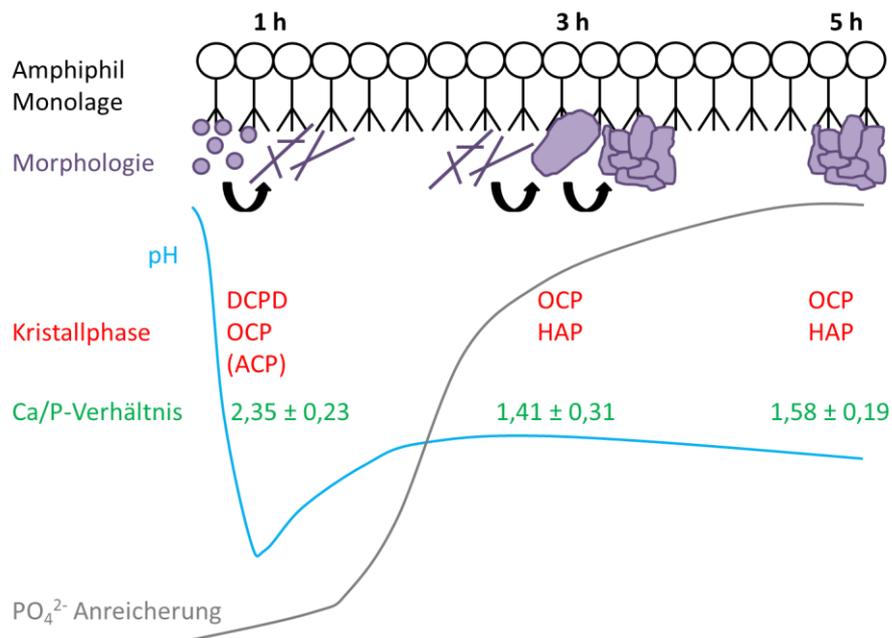
2 mM Phosphationenkonzentration. Die höhere Pufferkapazität der 20 mM Lösung sorgt wahrscheinlich dafür, dass die einzelnen Stufen der Phasenumwandlungen der einzelnen Kristallphasen nicht gut aufgelöst werden können.

Vergleicht man diese pH-Kurve mit den Messergebnissen von Ferreira et al.^[173], die die einzelnen Stufen bei der Mineralisation von DCPD untersuchten, zeigen sich ähnliche pH-Verläufe. Ferreira et al. verwendeten unter anderem eine 20 mM Calciumhydroxidlösung und eine 20 mM Orthophosphorsäurelösung für die Fällung von DCPD. Dabei beobachteten sie mehrere Zwischenstufen bei der Bildung von DCPD. Bei der Zugabe der Orthophosphorsäure zur Calciumhydroxidlösung kommt es ähnlich wie in unserem Fall zum starken Anstieg des pH-Wertes. Danach findet zunächst die Bildung und das Kristallwachstum von HAP statt, welches durch den Abfall des pH-Wertes ersichtlich wird. Die Ursache für den pH-Abfall liegt in der Freisetzung von Protonen bei dem Verbrauch der H_2PO_4^- -Ionen bei Bildung und dem Wachstum von HAP. Daraufhin erfolgt die Fällung der ersten DCPD Kristalle und deren Wachstum. In der Lösung existieren dann HAP und DCPD nebeneinander. Im Laufe der weiteren Reaktion erfolgt die Auflösung der HAP Kristalle und das Wachstum von DCPD, bis schließlich DCPD als die stabilste Spezies vorliegt. Bei der Transformation vom HAP zum DCPD wird ein Teil der Orthophosphorsäure verbraucht, wodurch der pH-Wert in diesem Bereich ansteigt.^[173]

Der pH-Verlauf ist vergleichbar mit unserer Studie. Die verwendeten Konzentrationen sind dieselben, jedoch ist der pH-Wert bei Ferreira et al. deutlich unter unserem. Die Ergebnisse der Elektronenbeugung und der EDXS Messungen sprechen zunächst für die Bildung einer thermodynamisch instabileren Phase. Diese Phase könnte ACP, DCPD oder OCP sein. Die Bildung dieser ersten Spezies ist mit einem Abfall des pH-Wertes gekennzeichnet. Gehen wir davon aus, dass es sich bei der ersten Spezies um OCP handelt, könnte dieses durch Hydrolyse in HAP umgewandelt werden. Diese Reaktion ist mit einem Anstieg des pH-Wertes verbunden. Da die Anwesenheit des Amphiphils die Hydrolyse von OCP zu HAP hemmt, verläuft diese Reaktion sehr langsam. Demnach finden wir sowohl nach 3 h als auch nach 5 h ein Gemisch aus OCP und HAP vor. Außerdem sinkt der pH-Wert bis zum Ende der Mineralisation wieder leicht. Es könnte also durchaus sein, dass sich ein Teil der gebildeten HAP Kristalle zu Gunsten der OCP Kristalle wieder auflöst.

In Schema 6 ist ein Überblick für die CP Mineralisation bei einer Calciumkonzentration von 20 mM gezeigt. Es wird zum einen die Morphologieveränderung von Partikeln und Nadeln

nach 1 h zu Nadeln, Plättchen und dünnen gefalteten Schichten nach 3 h und schließlich zu den dünnen gefalteten Schichten nach 5 h deutlich. Die Elektronenbeugung bestätigt, dass es sich bei den verschiedenen Morphologien um unterschiedliche Kristallphasen handelt, wobei eine genaue Zuordnung sich als schwierig gestaltete. Es konnte dennoch gezeigt werden, dass nach 1 h eine Kristallphase mit geringer Kristallinität (DCPD, OCP oder ACP) gebildet wurde, die dann im Laufe der Mineralisation zu OCP und ein wenig HAP umgewandelt wurde. Einen Beweis dafür konnte zusätzlich die HRTEM liefern, die zeigt, dass nach 5 h sowohl OCP als auch HAP Kristalle isoliert voneinander vorliegen.



Schema 6: Schematischer Überblick über die Änderung der Bedingungen wie beispielsweise Morphologie, pH-Verlauf, Kristallphase, Ca/P-Verhältnis und der PO_4^{2-} Anreicherung während der Mineralisation von CP bei einer Calciumkonzentration von 20 mM.

5. Vergleich der beiden Amphiphile

In diesem Kapitel werden die Effekte der unterschiedlichen hydrophilen Kopfgruppen der beiden Amphiphile auf das jeweilige Phasenverhalten und auf die Mineralisation von CP diskutiert. Wie bereits zuvor erwähnt besitzen beide Amphiphile ein Cholesterylrest als hydrophoben Block. Das CHOL-HEM besitzt als hydrophilen Block ein Hemisuccinat, wohingegen das A-CHOL mit einem Newkome Dendron einen deutlich größeren hydrophilen Block aufweist.

5.1 Unterschiede im Phasenverhalten

Die beiden untersuchten Amphiphile unterscheiden sich stark in ihrem Phasenverhalten. So findet bei 20 und 30 °C für das A-CHOL ein Phasenübergang von der gasanalogen/flüssiganalogen Phase zur flüssiganalogen Phase statt. Das CHOL-HEM hingegen weist bei 10, 20 und 30 °C zwei Phasenübergänge auf. Ausgehend von einer gasanalogen/gekippten flüssig-kondensierte Phase zunächst in die gekippte und danach in die aufrecht flüssig-kondensierte Phase.

Die Ursache für diese zusätzliche Phasenumwandlung liegt in der Größe der hydrophilen Kopfgruppe begründet. Das A-CHOL beinhaltet drei Carbonsäuren und das CHOL-HEM nur eine Carbonsäure pro hydrophile Kopfgruppe. Die hydrophile Kopfgruppe im A-CHOL beansprucht damit deutlich mehr Platz. Zusätzlich ist die Abstoßung zwischen den einzelnen Kopfgruppen im A-CHOL größer als im CHOL-HEM. Die einzelnen Moleküle im A-CHOL können demnach nicht so weit komprimiert werden, dass es zu einer Aufrichtung des hydrophoben Blocks kommt. Die größeren Abstoßungskräfte sorgen zusätzlich dafür, dass mehr Kraft aufgewendet werden muss, um den Film zu komprimieren. Demnach weist das A-CHOL einen viel höheren Kollapsdruck als das CHOL-HEM auf.

Diese beiden Vermutungen werden durch eine Studie von Weidemann et al.^[131] unterstützt. Sie untersuchten den Einfluss der Größe der hydrophilen Kopfgruppe auf das Phasenverhalten verschiedener Phospholipide wie Dipalmitoylphosphatidylethanolamin (DPPE), Dipalmitoylphosphatidyl-N-monomethylethanolamin (DPP(Me)E), Dipalmitoylphosphatidyl-N,N-dimethylethanolamin (DPP(Me₂)E) und Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC).^[131] Der strukturelle Unterschied liegt darin, dass DPPE drei Wasserstoffatome am

Stickstoff trägt. Bei DPP(Me)E sind ein, bei DPP(Me₂)E zwei und beim DPPC drei Wasserstoffatome durch Methylgruppen ausgetauscht. Die Größe der hydrophilen Kopfgruppe nimmt also in dieser Reihenfolge zu und hat einen direkten Einfluss auf die Aufrichtung der Alkylketten des hydrophoben Blocks. Eine große Kopfgruppe behindert die Aufrichtung des hydrophoben Blocks, wodurch dieser eine gekippte Orientierung bezüglich der Wasseroberfläche annimmt. Für die großen Kopfgruppen von DPPC und DPP(Me₂)E konnte keine vollständige Aufrichtung der Alkylketten beobachtet werden. Für die beiden kleineren Kopfgruppen von DPP(Me)E und DPPE wurde ersichtlich, dass die vollständige Aufrichtung der Alkylketten beim DPP(Me)E bei deutlich höheren Oberflächendrücken erfolgte als beim DPPE. Das gleiche Verhalten spiegelte sich auch im Kollapsdruck wieder, der mit größer werdender Kopfgruppe anstieg. Währenddessen bei DCCP kein Kollaps beobachtet werden konnte, sank der Kollapsdruck in der Reihenfolge DPP(Me₂)E ≥ DPP(Me)E ≥ DPPE.^[131]

In einer vorherigen Studie untersuchten dieselben Autoren das Phasenverhalten von Dimyristoylphosphatidylethanolamin (DMPE).^[174] DMPE und DPPE weisen die gleiche hydrophile Kopfgruppe auf und unterscheiden sich lediglich in der Länge der Alkylketten des hydrophoben Blocks. Die beiden hydrophoben Reste im DMPE sind jeweils um zwei CH₂-Ketten länger als beim DPPE. Es stellte sich heraus, dass die Kettenlänge des hydrophoben Blocks einen deutlich geringeren Einfluss, sowohl auf die Aufrichtung der Alkylketten, als auch auf den Kollaps hat als die Größe der hydrophilen Kopfgruppe.^[131,174]

Aufgrund des größeren hydrophilen Blocks des A-CHOL kann im Gegensatz zum CHOL-HEM kein Phasenübergang von der gekippten in die aufrecht kondensierte Phase erfolgen. Die Ursache für das Auflösen einiger Amphiphilmoleküle bei pH-Werten über 8 im Fall des A-CHOL liegt vermutlich an der größeren Anzahl deprotonierter Carboxylgruppen innerhalb der hydrophilen Kopfgruppe. Diese sorgen für eine bessere Löslichkeit des hydrophilen Blocks in der Subphase verglichen zum CHOL-HEM. Im Fall des A-CHOL kann der hydrophobe Block den vielen deprotonierten Carboxylgruppen weniger gut entgegenwirken, so dass dieser mit in die Subphase gezogen wird.

Ein weiterer großer Unterschied ist im Phasenverhalten bei verschiedenen Calciumkonzentrationen zu erkennen. Das CHOL-HEM zeigt anders als das A-CHOL eine Zunahme in der Filmstabilität mit steigender Calciumkonzentration. Zusätzlich verschieben sich beim CHOL-HEM die Phasenumwandlungen mit steigender Calciumkonzentration zu kleineren Flächen und kleineren Oberflächendrücken. Auch diese Unterschiede werden

höchstwahrscheinlich durch die hydrophile Kopfgruppe bestimmt. Im A-CHOL sind pro hydrophile Kopfgruppe dreimal so viele Carboxylgruppen vorhanden als im CHOL-HEM. Das bedeutet, dass pro deprotonierte Carboxylgruppe im A-CHOL weniger Ca^{2+} -Ionen zur Verfügung stehen als beim CHOL-HEM. Das scheint das Phasenverhalten des A-CHOLs nicht deutlich zu verändern, da sich selbst bei einer Calciumkonzentration von 200 mM die Isotherme nicht verschiebt, sondern lediglich der Film früher kollabiert.

Dieser Zusammenhang lässt sich mit dem zunehmenden Deprotonierungsgrad der Carboxylgruppen und der damit verbundenen Zunahme der elektrostatischen Abstoßungskräfte mit steigender Calciumkonzentration erklären. Das CHOL-HEM hat nur eine deprotonierte Carboxylgruppe pro hydrophile Kopfgruppe, wobei diese untereinander über die Ca^{2+} -Ionen verbrücken können (Abbildung 36). Dadurch findet nicht nur eine Verschiebung der Isothermen zu kleineren Flächen und die Erniedrigung des Oberflächendrucks bei der Phasenumwandlung von der gekippten zur aufrecht flüssig-kondensierten Phase statt, sondern auch eine Zunahme der Filmstabilität.

Das A-CHOL weist hingegen in Anwesenheit der Ca^{2+} -Ionen drei deprotonierte Carboxylgruppen pro hydrophile Kopfgruppe auf. Ähnlich wie beim CHOL-HEM können die deprotonierten Carboxylgruppen mit den Ca^{2+} -Ionen durch Komplexbildung verbrücken. Die Verbrückung tritt möglicherweise vorwiegend zwischen den deprotonierten Carboxylgruppen der gleichen hydrophilen Kopfgruppe auf und nur vereinzelt zwischen benachbarten hydrophilen Kopfgruppen. Da zusätzlich bei höheren Calciumkonzentrationen mehr deprotonierte Carboxylgruppen vorliegen, nimmt die elektrostatische Abstoßung innerhalb und zwischen den hydrophilen Blöcken zu. Die mit steigender Calciumkonzentration zunehmende Verbrückung wird also durch die zunehmende Abstoßung überkompensiert. In diesem Fall kann keine Verschiebung der Isothermen zu kleineren Flächen wie beim CHOL-HEM beobachtet werden.

Zudem führt die beim A-CHOL immer stärker werdende elektrostatische Abstoßung dazu, dass der Film destabilisiert wird und bei kleineren Oberflächendrücken kollabiert. Beim CHOL-HEM wird der Film durch die höhere Verbrückung und die geringeren elektrostatischen Abstoßungskräfte stabilisiert. Der Filmkollaps findet also bei höheren Oberflächendrücken statt, da mehr Kraft aufgebracht werden muss, um die Verbrückung zu brechen.

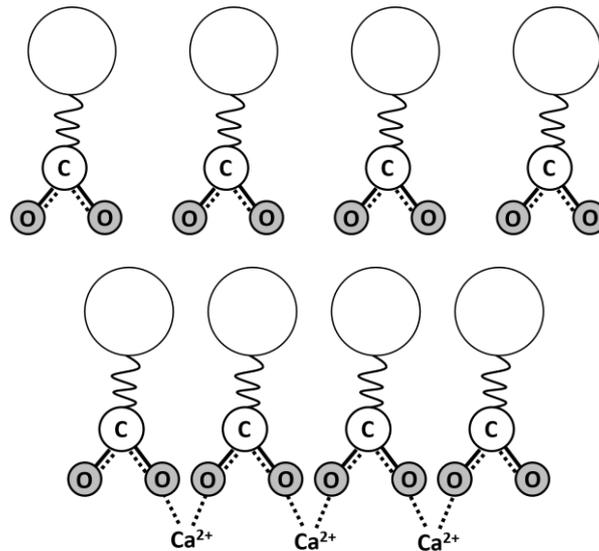


Abbildung 36: Schematische Darstellung der Verbrückung von benachbarten deprotonierten Carboxylgruppen durch Ca^{2+} -Ionen im Fall des Amphiphils CHOL-HEM und der damit verbundenen Verschiebung der Isothermen zu kleineren Flächen.

Das A-CHOL bildet stabilere Monolagen als das CHOL-HEM, da es im CHOL-HEM vermutlich zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen kommt. Dadurch, dass beim CHOL-HEM die hydrophilen Kopfgruppen deutlich näher zusammenrücken können, kann es bei der Kompression wie bereits im Kapitel 3.2.4 beschrieben, zur Verbrückung durch Wasserstoffbrückenbindungen kommen. Diese brauchen im Laufe der Expansion deutlich mehr Zeit zum Brechen, wodurch eine Hysterese beobachtet werden kann. Beim A-CHOL hingegen sind die einzelnen hydrophilen Kopfgruppen viel weiter voneinander entfernt, sodass keine beziehungsweise nur wenige Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den einzelnen hydrophilen Kopfgruppen gebildet werden können. Natürlich kann im Fall des CHOL-HEM die Lösung einiger Amphiphilmoleküle in der Subphase oder die Bildung sogenannten Multilagen mit zunehmenden Kompressions-/Expansionszyklus, nicht ausgeschlossen werden. Die Bildung von Multilagen könnte zum Beispiel auch durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen hervorgerufen werden. Beim A-CHOL hingegen können diese beide Faktoren, aufgrund der nicht vorhandenen Hysteresen ausgeschlossen werden.

5.2 Unterschiede im Mineralisationsverhalten

Vergleicht man die pH-Kurven während der Mineralisation von CP, so ist der Kurvenverlauf bei Calciumkonzentrationen von 2 mM für beide Additive ähnlich. Der AnfangspH-Wert ist bei beiden Amphiphilen gleich und steigt nach Zugabe der Phosphatlösung für beide an. Dieser Anstieg unterscheidet sich für beide Amphiphile minimal, liegt jedoch innerhalb des Fehlers. Die einzelnen Stufen während der Mineralisation sind um 5-10 Minuten verschoben. Da diese Werte im Bereich der Messungenauigkeiten liegen, kann der Unterschied vernachlässigt werden.

Die pH-Kurven bei Calciumkonzentration von 20 mM unterscheiden sich in Anwesenheit der Amphiphile deutlich stärker voneinander. Der pH-Wert vor Beginn der Mineralisation ist gleich und steigt nach Zugabe der Phosphatkomponente an. Für beide sinkt der pH-Wert anschließend. Beim CHOL-HEM sind in diesem Abfall anders als beim A-CHOL zwei Stufen zu erkennen. Für das A-CHOL ist anschließend ein Anstieg im pH-Wert zu beobachten und beim CHOL-HEM ein minimaler Abfall.

Die Unterschiede in den pH-Kurven können durch ein unterschiedliches Mineralisationsverhalten erklärt werden. Die zwei Stufen im pH-Abfall des CHOL-HEM beruhen wahrscheinlich auf der Bildung einer thermodynamisch instabileren Kristallphase (ACP), die sich dann in OCP umwandelt. Beim A-CHOL sehen wir im pH-Abfall keine Stufen, jedoch konnte mittels SAED gezeigt werden, dass sich zunächst DCPD oder OCP bildet. Es könnte durchaus sein, dass bereits zu Beginn OCP ausfällt, welches sich dann zum Teil in HAP umwandelt. Mit dieser Hypothese wäre zum einen das Fehlen mehrerer Stufen im pH-Verlauf und zum anderen auch der anschließende pH-Anstieg erklärbar. Dieses Modell ist aktuell jedoch reine Spekulation. Beim CHOL-HEM hingegen wird die thermodynamisch instabilere Phase höchstwahrscheinlich zunächst zu OCP umgewandelt und durch das Amphiphil stabilisiert. Da die Hydrolyse von OCP zu HAP unterdrückt wird, findet kein Wiederanstieg des pH-Wertes wie beim A-CHOL statt.

Die IRRAS Messungen bestätigen für beide Amphiphile eine Anreicherung von Phosphationen an der Grenzfläche, die nicht linear, sondern in mehreren Stufen abläuft. Diese Anreicherung scheint beim CHOL-HEM schneller zu erfolgen als beim A-CHOL. Die Mineralisation von CP verläuft jedoch nicht homogen und unterliegt lokalen Unterschieden.

Da im Fall des CHOL-HEM bei der Mineralisation von CP keine großen Unterschiede zwischen den beiden Calciumkonzentrationen von 2 und 20 mM beobachtet werden konnte, wird in der folgenden Diskussion die Calciumkonzentration vernachlässigt. Ein Vergleich der Morphologien kann weiterhin erst nach einer Mineralisationszeit von 3 h gemacht werden, da beim CHOL-HEM vorher keine Proben isoliert wurden. In Anwesenheit beider Amphiphile werden nach einer Mineralisationszeit von 3 beziehungsweise 5 h vorrangig dünne gefaltete Schichten gebildet. Das A-CHOL zeigt zusätzlich nach 3 h Nadeln, Partikel und Plättchen. Die dünnen gefalteten Schichten bilden beim CHOL-HEM eine Art „Teppich“ und scheinen stärker miteinander verwachsen zu sein als beim A-CHOL. Diese Unterschiede können auch durch SAED und HRTEM bestätigt werden. Beim CHOL-HEM konnte OCP als einzige Kristallphase identifiziert werden, wohingegen beim A-CHOL zusätzlich HAP gebildet wurde. Demnach könnten die dünnen gefalteten Schichten OCP darstellen und die Nadeln im Fall des A-CHOL wahrscheinlich HAP.

Für eine bessere Kontrolle bei der Mineralisation von CP in Anwesenheit des A-CHOL, sprechen die HRTEM Bilder. Diese können im Fall des A-CHOL anders als beim CHOL-HEM einer genauen Orientierung der jeweiligen Kristallphase zugeordnet werden.

Zusätzlich kann die erfolgreiche Mineralisation von CP durch die XPS Messungen bestätigt werden. Der Einfluss der beiden Amphiphile auf den Verlauf der CP Mineralisation ist unterschiedlich. Beim CHOL-HEM kann die Hemmung der Hydrolyse von OCP zu HAP beobachtet werden, wohingegen beim A-CHOL ein Gemisch aus beiden Kristallphasen gebildet wird.

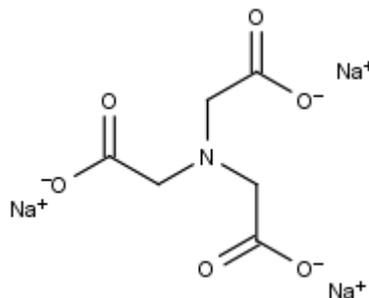
Verglichen mit den Studien von Bigi et al.^[156] bedeutet das, dass das CHOL-HEM aufgrund seiner geringeren Größe und besseren Flexibilität besser mit dem OCP Kristall wechselwirken kann als das A-CHOL. Die Carboxylgruppe des CHOL-HEM kann vermutlich flach an dem OCP Kristall adsorbieren und so die Hydrolyse von OCP zu HAP unterdrücken. Das A-CHOL adsorbiert aufgrund seiner größeren hydrophilen Kopfgruppe durch die zusätzliche Verzweigung wahrscheinlich eher gefaltet an die Kristalloberfläche. Dadurch können nicht alle Carboxylgruppen des A-CHOL mit dem OCP Kristall wechselwirken und die Hydrolyse zum HAP unterdrücken.

6. Mineralisation in Bulklösung

Nachdem wir ausführlich die Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche untersucht haben, sollten diese Ergebnisse mit der Mineralisation von CP in Bulklösung verglichen werden. Dazu wurden zum einen gleiche Reaktionszeiten (4 h) und vom Aufbau her ähnliche Mineralisationsadditive verglichen zum A-CHOL gewählt. Zum anderen erfolgten die Mineralisationen bei pH-Werten zwischen 6 und 9. Als Additive dienen zum einem Nitrilotriessigsäure (NTA) und zum anderem Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA). Es handelt sich bei beiden Additiven um Komplexbildner, wobei das NTA in seinem Aufbau, dem von uns verwendeten A-CHOL am ähnlichsten ist.

6.1 Nitrilotriessigsäure als Mineralisationsadditiv

Beim NTA handelt es sich um einen vierzähligen Chelatliganden (Schema 7), der mit Calciumionen einen stabilen Calciumkomplex bildet.



Schema 7: Struktur von Nitrilotriessigsäure.^[162]

Es wurde bei verschiedenen pH-Werten (pH 5, 6, 7, 8, 9 und 10) in Anwesenheit (5, 10 und 15 mM) sowie in Abwesenheit (0 mM) von NTA über einen Zeitraum von 4 h mineralisiert. Bei der Probe, die in Abwesenheit von NTA mineralisiert wurde, handelt es sich um die Kontrollprobe.

Die Rasterelektronenmikroskopie Bilder (SEM) sind in Abbildung 37 gezeigt. Die Kontrollprobe bei pH 6 weist Plättchen verschiedener Größen auf. Die kleineren Plättchen weisen Größen zwischen ungefähr 5-7 μm auf, wobei diese vermutlich Bruchstücke der größeren Plättchen mit Größen von etwa 13-16 μm sind. Die Proben mineralisiert bei pH 6 in Anwesenheit von NTA sehen deutlich anders aus und zeigen Stäbchen als vorherrschende

Morphologie. Dabei nehmen die Dimensionen der Stäbchen mit zunehmender NTA Konzentration ab. Bei einer Konzentration von 5 mM sind die Stäbchen ca. 5-11 μm , bei 10 mM ca. 3-7 μm und bei 15 mM nur noch ca. 2-6 μm groß. Die Kontrollprobe bei pH 7 zeigt ähnlich zur Kontrollprobe bei pH 6 Plättchen. Diese sind mit Größen zwischen 17-23 μm größer als bei einem pH-Wert von 6. Es sind wiederum kleinere Plättchen vorhanden, jedoch deutlich weniger als bei pH 6. Bei einer NTA Konzentration von 5 mM sind bei pH 7 wie bei der gleichen Konzentration bei pH 6 Stäbchen zu sehen. Verglichen zu pH 6 sind diese Stäbchen weniger gut ausgebildet und untereinander sehr stark verwachsen, so dass eine Größenabschätzung schwierig ist. Wird die Konzentration des NTAs auf 10 mM erhöht, sind weder Stäbchen noch Plättchen zu beobachten. Die nun vorliegende Struktur ähnelt Mikrometergroßen dichten Blöcken die anscheinend im Laufe des Trocknungsvorganges brechen. Höhere Vergrößerungen zeigen, dass diese Blöcke aus kleinen Nanopartikeln in der Größenordnung von 10 bis 100 nm aufgebaut sind. Die bei pH 7 mit Zusatz von 15 mM NTA mineralisierten Hybridmaterialien zeigen wiederum dichte Blöcke. Diese sind im Vergleich zur Probe mit 10 mM NTA deutlich rauer. Die Kontrollprobe bei pH 8 weist dichte Blöcke und kleine Plättchen auf deren Oberfläche auf. Für alle Proben die in Anwesenheit von NTA bei pH 8 mineralisiert wurden, sind wiederum dichte Blöcke zu sehen, die sich nicht signifikant voneinander unterscheiden. Die gleiche Morphologie ist auch bei den Hybridmaterialien mineralisiert bei pH 9 zu finden.

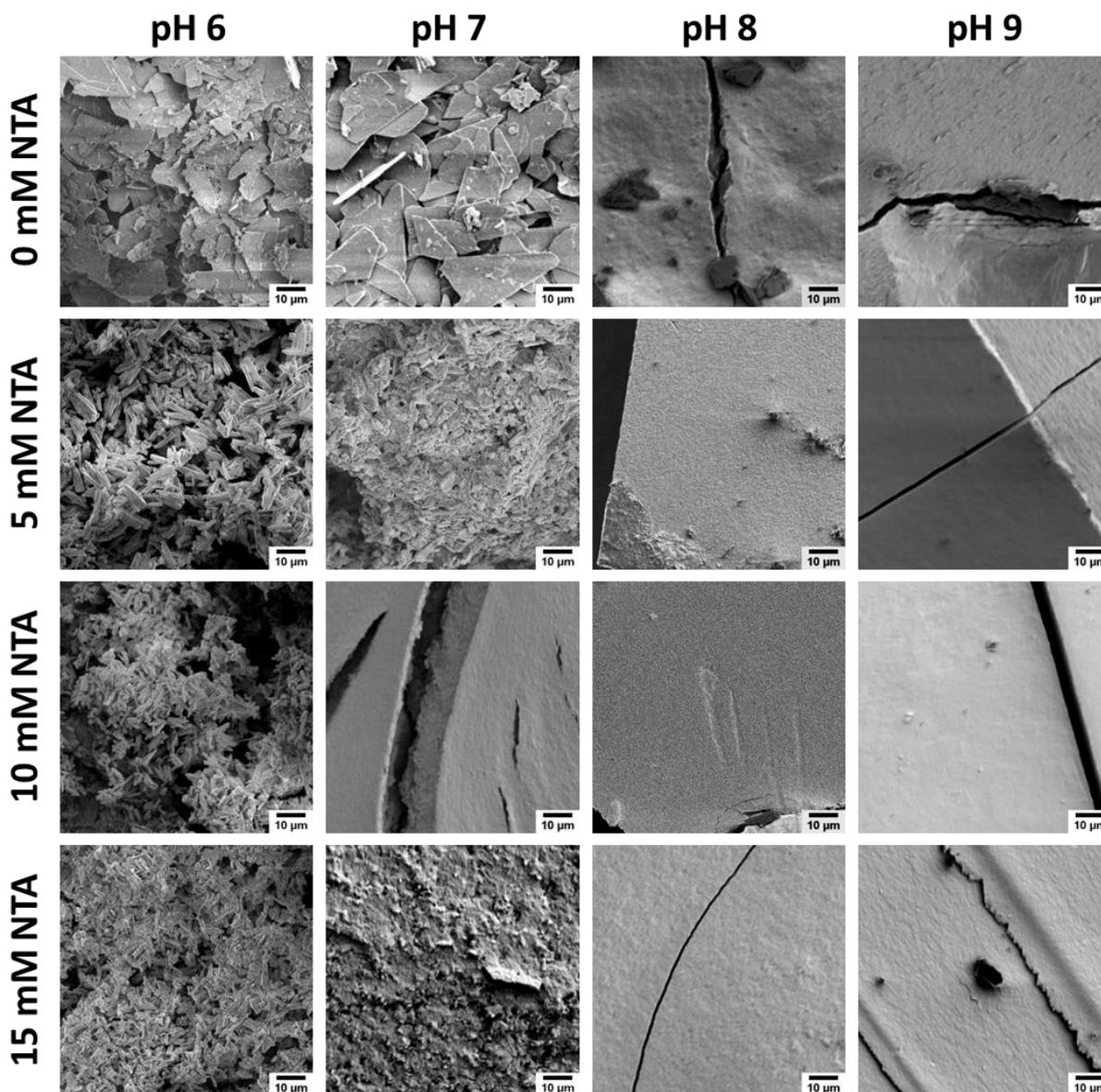


Abbildung 37: Repräsentative SEM Bilder der mineralisierten Calciumphosphate bei verschiedenen Reaktionsbedingungen.

Um die einzelnen Kristallphasen der Minerale zu zuordnen, wurden Röntgenpulverdiffraktogramme (XRD) und Infrarotspektren (IR) aufgenommen (Abbildung 38). Die Proben, die bei pH 6 mineralisiert wurden, zeigen alle die gleichen Diffraktogramme. Die intensivsten Reflexe befinden sich bei 11,6 (0 2 0); 20,9 (0 2 1); 29,3 (0 4 1); 30,5 (-2 2 1); 34,1 (-2 2 0) und 34,4 (-2 0 2) ° 2θ und weniger intensive Reflexe bei 23,4 (0 4 0) ° 2θ und größeren Winkeln. Alle Reflexe können Brushit (DCPD, ICDD 00-009-0077) zugeordnet werden. Die Diffraktogramme der Kontrollprobe bei einem pH-Wert von 7 und einer NTA Konzentration von 5 mM zeigen die gleichen Reflexe wie bei pH 6 und beweisen die Bildung

von DCPD. Bei höheren NTA Konzentrationen von 10 und 15 mM sind Reflexe von DCPD bei 11,6 (0 2 0); 20,9 (0 2 1); 23,4 (0 4 0); 29,3 (0 4 1); 30,5 (-2 2 1) und 34,1 (-2 2 0) und Reflexe von HAP (ICDD 00-001-1008) bei 25,9 (0 0 2); 28,5 (2 1 0); 31,9 (2 1 1); 33,9 (2 0 2); 39,6 (3 1 0); 46,6 (2 2 2); 49,5 (2 1 3); 53,2 (0 0 4) und 64,1 (3 0 4) oder (3 2 3) zu finden. Weiterhin ist zu erkennen, dass bei 10 mM mehr HAP als DCPD und bei 15 mM mehr DCPD als HAP vorliegt. Die Kontrollprobe bei pH 8 zeigt Reflexe von DCPD und HAP. Alle anderen Proben (pH 8 in Anwesenheit von NTA und alle bei pH 9) mineralisierten Proben weisen ausschließlich Reflexe für HAP auf.

In Übereinstimmung zu den XRD Daten, zeigen alle Proben mineralisiert bei pH 6 identische Spektren. Die Banden bei Wellenzahlen um die 3535, 3483, 3273 und 3153 cm^{-1} können als O-H Streckschwingung des Kristallwassers im DCPD identifiziert werden.^[175-178] Dabei handelt es sich bei diesen vier Banden um zwei intensive Dubletts. Diese beiden Dubletts sind typisch für DCPD und deuten darauf hin, dass die Wassermoleküle in der DCPD Einheitszelle verschieden gebunden sind. Das Dublett bei höheren Wellenzahlen (3535 und 3483 cm^{-1}) weist deutlich schärfere Peaks auf als das Dublett bei tieferen Wellenzahlen (3273 und 3153 cm^{-1}). Das intensive Dublett wird durch locker gebundene Wassermoleküle hervorgerufen und das weniger stark ausgebildete Dublett durch Schwingungen von Wassermolekülen, die direkte Bindungen zu den Calciumatomen ausbilden.^[179-182]

Die O-H Biegeschwingung von H_2O ist bei 1649 cm^{-1} zu finden.^[175,176,178] Die Bande bei 1209 cm^{-1} kann als O-H Biegeschwingung der HPO_4^{2-} Gruppe identifiziert werden.^[175,176,178,182,183] Die Bande bei 1136 cm^{-1} kann der entarteten ν'_6 und ν''_6 Streckschwingung der HPO_4^{2-} -Ionen in DCPD zugeordnet werden.^[176,177] Die ν_3 Streckschwingung der PO_4^{3-} Gruppe befindet sich bei 1065 cm^{-1} und die symmetrische ν_1 Streckschwingung der P-O(H) Bindung in der PO_4^{3-} -Gruppe bei einer Wellenzahl von 987 cm^{-1} .^[176,177] Die symmetrische Streckschwingung der HPO_4^{2-} im DCPD ist bei einer Wellenzahl von 874 cm^{-1} zu finden.^[175,176] Die Banden bei 793 und 661 cm^{-1} können der Taumelschwingung von H_2O zugeordnet werden, wobei die Bande bei 661 cm^{-1} auch durch die ν_4 Biegeschwingung der P-O Gruppe zustande kommen kann.^[184] Die ν_4 Biegeschwingung der P-O Gruppe ist bei 579 und 528 cm^{-1} zu finden.^[175,176] Die gleiche Zuordnung kann sowohl für die Kontrollproben bei pH 7 und 8 und für die Probe mineralisiert mit 5 mM NTA getroffen werden.

Die Proben mineralisiert bei pH 7 und 10 mM NTA, bei pH 8 und 5, 10 und 15 mM NTA und bei einem pH 9 und 0, 5, 10 und 15 mM NTA, zeigen andere charakteristische Banden in

den IR Spektren. Die Banden bei 1455 und 1421 cm^{-1} können der ν_3 Streckschwingungen und die Bande bei 874 cm^{-1} der ν_2 Biegeschwingungen von CO_3^{2-} zugeordnet werden.^[124,175,185,186] Das spricht dafür, dass während der Mineralisation Carbonat in den Kristall mit eingebaut wurde. Die starke Bande bei 1032 cm^{-1} sowie die Schulter bei 1090 cm^{-1} können der dreifach entarteten antisymmetrischen ν_3 Streckschwingung der O-P-O Bindung des PO_4^{3-} -Ions zugeordnet werden.^[123,124,186,187] Die symmetrische ν_1 Streckschwingung der gleichen Gruppe ist als Schulter bei 962 cm^{-1} zu finden.^[123,187] Sowohl die Bande bei 602 cm^{-1} als auch die Bande bei 563 cm^{-1} wird durch die dreifach entartete ν_4 Biegeschwingung der O-P-O Bindung des PO_4^{3-} -Ions verursacht.^[123,186,187] Die drei Banden bei 1032, 602 und 563 cm^{-1} sind charakteristisch für HAP.^[186,188] Die Kontrollprobe mineralisiert bei pH 9 weist zusätzlich eine Bande bei 1641 cm^{-1} und eine breite Bande zwischen 3000 und 3500 cm^{-1} auf, die beide auf adsorbiertes Wasser schließen lassen.^[189,190]

Das Hybridmaterial, welches mit 15 mM NTA bei einem pH-Wert von 7 mineralisiert wurde, weist Banden auf, die sowohl dem DCPD als auch dem HAP zugeordnet werden können. Die Wellenzahlen der charakteristischen Banden unterscheiden sich für einige Proben minimal (Tabelle 11-13 im Anhang).

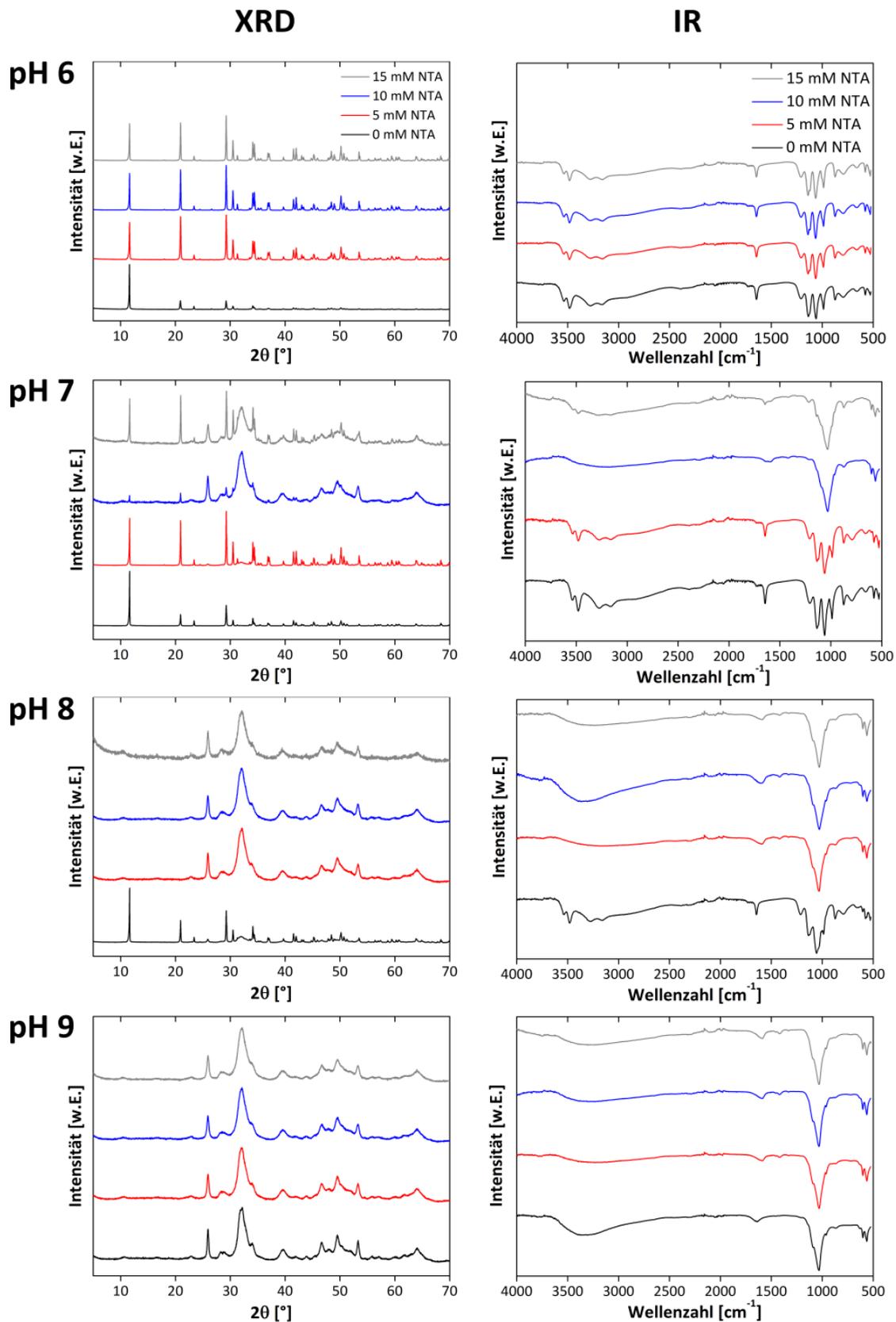


Abbildung 38: Röntgenpulverdiffraktogramme und IR-Spektren von Proben mineralisiert bei verschiedenen NTA Konzentrationen (0, 5, 10 und 15 mM) und pH-Werten (6 – 9).

Um einen Überblick über den Mineralisationsverlauf als Funktion der pH-Werte und NTA Konzentrationen zu erhalten, wurden pH- und Leitfähigkeitskurven aufgenommen (Abbildung 39). Die Leitfähigkeitskurven zeigen im Prinzip den gleichen Verlauf wie die pH-Kurven. Aufgrund der besseren Auflösung der pH-Kurven werden im Folgenden vorwiegend diese beschrieben.

Zunächst wurde bei jeder Messung 5 min lang der pH-Wert der Ausgangslösung (40 mM Calciumnitratlösung versetzt mit 0, 5, 10 und 15 mM NTA) aufgezeichnet. Anschließend wurde eine 40 mM Diammoniumhydrogenphosphatlösung hinzugegeben und die Mineralisation gestartet. Deshalb wurde dieser Punkt bei der Zeitskala auf den Punkt „0“ gesetzt.

Die pH-Kurven bei pH 6 zeigen prinzipiell einen ähnlichen Verlauf. Zu Beginn weisen alle Konzentrationen einen Ausgangs-pH-Wert zwischen 5,97 und 6,04 auf, der innerhalb der ersten 5 min (-5-0 min) minimal ansteigt. Er fällt nach der Zugabe der Phosphatlösung leicht ab: bei einer NTA Konzentration von 0 mM von 6,01 auf 5,93; bei 5 mM von 6,00 auf 5,99 und bei 10 mM von 6,04 auf 6,01. Bei einer NTA Konzentration von 15 mM steigt der pH-Wert bei der Zugabe von 6,01 auf 6,12 an.

Der Start der Mineralisation ist durch einen abrupten Abfall des pH-Wertes gekennzeichnet, wobei dieser mit steigender NTA Konzentration weniger stark ausgeprägt und zu tieferen Reaktionszeiten verschoben ist. Bei der Kontrollprobe fällt der pH-Wert innerhalb von 12 min von 5,93 auf 4,97, bei 5 mM NTA innerhalb von 15 min von 5,99 auf 5,16, bei 10 mM NTA innerhalb von 20 min von 6,01 auf 5,23 und bei 15 mM NTA innerhalb von 20 min von 6,12 auf 5,49. Nach diesem starken pH-Abfall ist im Kurvenverlauf ein deutlich schwächerer Abfall des pH-Wertes ersichtlich, der mit zunehmender NTA Konzentration länger andauert. Dieser schwache Abfall erfolgt bei der Kontrollprobe von etwa 12-30 min von einem pH-Wert von 4,97 auf 4,85, bei 5 mM NTA von 15-40 min von 5,16 auf 5,02, bei 10 mM NTA von 20-50 min von 5,23 auf 5,09 und bei 15 mM NTA von 20-70 min von 5,49 auf 5,33. Bis zur Beendigung des Experiments (nach 140 min) sinkt der pH-Wert nur noch minimal. Der End-pH-Wert bei der Kontrollprobe beträgt 4,83, bei 5 mM NTA 4,96, bei 10 mM NTA 5,03 und bei 15 mM NTA 5,24. Der pH-Wert ist zum Ende der Mineralisation mit steigender NTA Konzentration zu höheren pH-Werten verschoben.

Der Kurvenverlauf bei pH 7 unterscheidet sich deutlich von dem bei pH 6. Die Kontrollprobe bei pH 7 startet bei einem pH-Wert von 6,98-6,99. Nach der Zugabe der

Phosphatlösung sinkt der pH-Wert drastisch, bis nach 1,25 min ein Minimum bei einem pH-Wert von 6,27 auftaucht. Anschließend steigt der pH-Wert wieder an bis nach 1,8 min ein Maximum bei 6,3 entsteht. Danach fällt der pH-Wert stark ab bis dieser nach 10 min einen Wert von 5,55 annimmt, wobei nach ca. 3 min und einem pH-Wert von 5,9 eine Schulter erkennbar ist. Für die letzten 20 min Mineralisationszeit sinkt der pH-Wert nur noch leicht auf einen Wert von 5,51. Mit steigender NTA Konzentration ist das Minimum deutlich schwächer ausgebildet und das Maximum wird nach und nach zu einem Plateau. Der Ausgangs-pH-Wert ist bei allen Konzentrationen annähernd gleich, bei 5 mM NTA liegt dieser zwischen 6,99-7,05, bei 10 mM NTA zwischen 7,03-7,04 und bei 15 mM 7,03-7,05. Sobald die Phosphatlösung dazu gegeben wurde, sinkt der pH-Wert innerhalb der ersten halben Minute stark. Dieser Abfall ist mit zunehmender NTA Konzentration weniger stark ausgebildet und beträgt bei 5 mM NTA 6,44, bei 10 mM NTA 6,56 und bei 15 mM NTA 6,69.

Anschließend fällt der pH-Wert weniger stark ab, wobei dieser Abfall mit steigender NTA Konzentration deutlich langsamer verläuft und länger anhält bis es zur Ausbildung des Minimums kommt. Dieses befindet sich bei 5 mM NTA bei 4 min und einem pH-Wert von 6,26, bei 10 mM NTA bei 6 min und einem pH-Wert von 6,39 und bei 15 mM NTA bei 8,8 min und einem pH-Wert von 6,53. Anschließend steigt der pH-Wert wieder leicht an bis es zur Ausbildung des Plateaus kommt, welches bei hohen NTA Konzentrationen länger vorherrscht. Bei einer Konzentration von 5 mM NTA besteht das Plateau für ca. 1,3 min, bei 10 mM NTA für 1,8 min und bei 15 mM NTA für 2,1 min. Daraufhin fällt der pH-Wert zunächst stark und danach deutlich schwächer. Der starke Abfall ist bei tiefen NTA Konzentration stärker ausgeprägt als bei höheren Konzentrationen und der schwache Abfall dauert bei höheren Konzentration länger an. Der steile Abfall erfolgt für eine NTA Konzentration von 5 mM bis zu einer Reaktionszeit von 7,4 min und einem pH-Wert von 5,87, bei 10 mM bis zu 10,6 min und einem pH-Wert von 6,06 und bei 15 mM bis zu 19,9 min und einem pH-Wert von 6,31. Bei einer Konzentration von 5 mM NTA sinkt der pH-Wert anschließend minimal auf 5,81 nach 9,4 min und schließlich auf 5,83 bis zum Ende der Mineralisation nach 30 min. Bei 10 mM NTA ist der schwache Abfall bei einem pH-Wert von 5,98 nach 13,8 min abgeschlossen und sinkt letztendlich auf 5,95 bis zum Ende des Experiments nach 30 min. Die langsamere Absenkung des pH-Werts bei 15 mM NTA erfolgt bis zu einem pH-Wert von 6,22 nach 17,8 min und fällt danach bis auf einen pH-Wert von 6,17 nach 30 min.

Die Kontrollprobe bei pH 8 zeigt wie die Kontrollprobe bei pH 7 ein Minimum und ein Maximum. Der Anfangs-pH-Wert liegt zwischen 8,05 und 8,03, sinkt nach der Phosphatzugabe innerhalb der ersten 0,5 min steil auf 6,81 ab, bis es schließlich nach 2 min und einem pH-Wert von 6,68 zur Ausbildung des Minimums kommt. Danach steigt der pH-Wert langsam bis zum Maximum bei 3,1 min und einem pH-Wert von 6,72 an. Nachdem das Maximum überwunden wurde, fällt der pH-Wert drastisch ab bis nach 5 min ein pH-Wert von 6,29 vorliegt. Bis zum Ende der Mineralisationszeit nach 30 min steigt der pH-Wert wieder leicht auf einen Wert von 6,41 an. Der Kurvenverlauf bei höheren NTA Konzentrationen unterscheidet sich deutlich zu dem eben beschriebenen. Ähnlich wie bei den Mineralisationen in Anwesenheit von NTA bei pH 7, kommt es zur Ausbildung eines Plateaus. Dieses Plateau ist bei pH 8 deutlich schwächer ausgeprägt und verschwindet allmählich mit zunehmender NTA Konzentration. Der pH-Wert vor dem Beginn der Mineralisation liegt zwischen 7,93-7,89 für die Mineralisation bei 5 mM NTA, zwischen 8,01-7,96 für 10 mM NTA und konstant bei 8,01 für 15 mM NTA. Die Zugabe der Phosphatkomponente führte innerhalb der ersten 0,5 min zu einem starken pH-Abfall, der mit steigender NTA Konzentration weniger stark ausfiel.

Bei einer NTA Konzentration von 5 mM sinkt der pH-Wert bis auf 6,95, bei 10 mM auf 7,1 und bei 15 mM auf 7,26. Daraufhin fällt der pH-Wert, bis zum Erreichen des Quasi-Plateaus, nur noch langsam. Das Quasi-Plateau bei 5 mM NTA beginnt nach 5,1 min bei einem pH-Wert von 6,79 und endet nach 7,3 min, wobei der pH-Wert leicht auf 6,75 absinkt. Danach fällt der pH-Wert bis zu einer Reaktionszeit von 10 min deutlich stärker auf einem pH-Wert von 6,38 und sinkt anschließend für die restlichen 20 min leicht auf einen pH-Wert von 6,32. Bei 10 mM NTA befindet sich das Quasi-Plateau zwischen 7,5 und 11 min und einem pH-Wert zwischen 6,96-6,9. Bis zu einer Mineralisationszeit von 13 min fällt der pH-Wert zunächst schnell auf 6,71 und dann bis zum Ende nach 30 min langsamer auf einen pH-Wert von 6,62. Bei einer Konzentration von 15 mM ist kein Quasi-Plateau zu beobachten, dieses verschwindet nahtlos im langsamen pH-Abfall zwischen 0,5-14 min von einem pH-Wert von 7,26 auf 7,09. Anschließend fällt der pH-Wert deutlich steiler auf einen Wert von 6,99 nach 16 min und für die restliche Reaktionszeit erfolgt ein langsamer Abfall auf einen pH-Wert von 6,93.

Der Kurvenverlauf der Proben mineralisiert bei einem pH-Wert von 9 mit und ohne NTA, zeigt einen steilen pH-Abfall nach der Zugabe der Phosphatkomponente. Dieser ist mit steigender NTA Konzentration weniger stark ausgeprägt. Daraufhin kommt es zur Ausbildung

eines Quasi-Plateaus, in dessen Bereich der pH-Wert nur leicht absinkt. Das Quasi-Plateau existiert mit zunehmender NTA Konzentration für einen längeren Zeitraum. Nachdem das Quasi-Plateau überwunden wurde, fällt der pH-Wert zunächst steil und schließlich bis zum Ende der Mineralisation nach 170 min langsamer.

Der Anfangs-pH-Wert (Zeitraum -5-0 min) liegt bei der Kontrollprobe zwischen 8,98-8,94 und bei 5 mM NTA konstant bei pH 9,00, bei 10 mM NTA bei pH 8,99 und bei 15 mM NTA bei pH 9,04. Innerhalb der ersten Minute nach der Phosphatzugabe sinkt der pH-Wert auf 7,94 bei 0 mM NTA, 8,08 bei 5 mM NTA, 8,33 bei 10 mM NTA und 8,39 bei 15 mM NTA. Das daran anschließende Quasi-Plateau existiert bis zu einer Mineralisationszeit von 13,6 min bei pH-Werten zwischen 7,94-7,88 für die Kontrollprobe, zwischen 8,08-8,05 und einem Zeitraum bis 22,1 min für 5 mM NTA, zwischen 8,33-8,27 bis 38,5 min für 10 mM NTA und zwischen 8,39-8,34 bis 46,2 min bei 15 mM NTA. Daraufhin fällt der pH-Wert steil bis er für die Kontrollprobe nach 20,4 min bei 7,6, für die 5 mM NTA Probe nach 32,4 min bei 7,87, für die 10 mM NTA Probe nach 47,3 min bei 8,19 und für die 15 mM NTA Probe nach 56 min bei 8,27 liegt. Danach sinkt der pH-Wert für alle Proben nur noch minimal, so dass dieser am Ende der Mineralisationszeit nach 170 min 7,5 für 0 mM NTA, 7,74 für 5 mM NTA, 8,1 für 10 mM NTA und 8,2 für 15 mM NTA beträgt.

Für alle pH-Kurven lässt sich feststellen, dass der End-pH-Wert mit sinkender NTA Konzentration, außer bei der Kontrollprobe bei pH 8, zu kleineren pH-Werten verschoben ist.

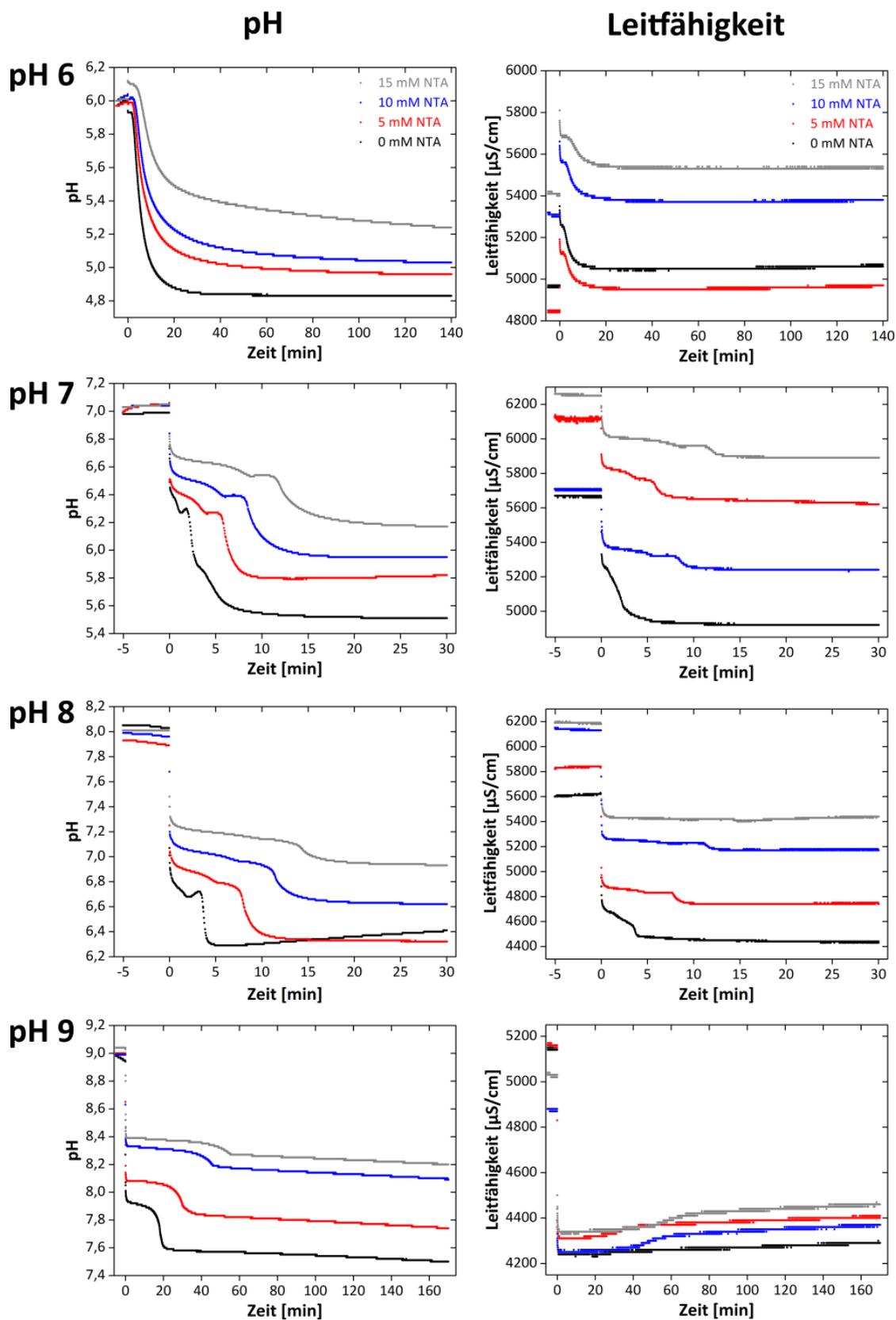
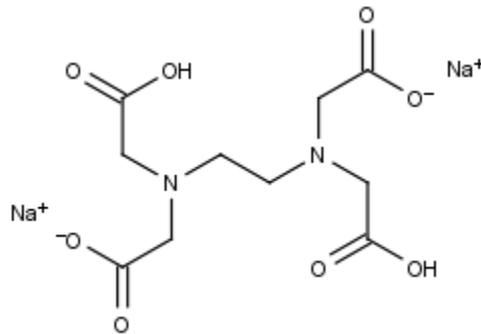


Abbildung 39: pH- und Leitfähigkeitsmessungen von Proben mineralisiert bei verschiedenen NTA Konzentrationen (0, 5, 10 und 15 mM) und pH-Werten (6 – 9). Der Zeitpunkt „0“ kennzeichnet den Start der Mineralisation durch die Zugabe der Phosphatkomponenten. Der Ausgangs-pH-Wert der Calciumkomponenten, welche die entsprechende Konzentration an NTA enthält, wurde zuvor über 5 min aufgenommen. Es ist zu beachten das die Mineralisationszeiten unterschiedlich sind (140 min bei pH 6, 30 min bei pH 7 und 8, 170 min bei pH 9).

6.2 Ethylendiamintetraessigsäure als Mineralisationsadditiv

Beim EDTA handelt es sich um einen sechszähligen Liganden (Schema 8), der mit Kationen wie beispielsweise Calciumionen sehr stabile Chelatkomplexe bilden kann.



Schema 8: Struktur von Ethylendiamintetraessigsäure.^[162]

Die Mineralisation von CP mit EDTA als Additiv wurde analog zu der Mineralisation mit NTA als Additiv durchgeführt (pH-Werte: 5, 6, 7, 8, 9; EDTA Konzentrationen: 0, 5, 10, 15 mM; Reaktionszeit: 4 h).

Die SEM Bilder der mineralisierten Hybridmaterialien sind in Abbildung 40 gezeigt. Im Gegensatz zu den Materialien, die mit NTA mineralisiert wurden, sind diesmal nur die pH-Werte 6 und 8 dargestellt. Da sich die Morphologie zwischen pH-Werten von 6 und 7 beziehungsweise für pH-Werte zwischen 8 und 9 nicht maßgeblich unterscheiden, wurde auf die SEM Aufnahmen bei pH 7 und 9 verzichtet. Bei den Kontrollproben mit 0 mM EDTA handelt es sich um die gleichen SEM Bilder wie in Abbildung 37 (SEM Bilder mineralisiert mit NTA als Additiv).

Wie bereits erwähnt weist die Kontrollprobe bei pH 6 Plättchen verschiedener Größen auf, kleine Plättchen in der Größenordnung von 5-7 μm und größere mit 13-16 μm . Die bei pH 6 und 5 mM EDTA mineralisierte Probe, weist ähnliche Größen wie die Kontrollprobe auf (5-16 μm). Im Großen und Ganzen ist kein Unterschied bezüglich der Morphologie zwischen diesen beiden Proben ersichtlich. Die Kontrollprobe zeigt, anders als die mit 5 mM EDTA mineralisierte Probe, kleine Bruchstücke, die über die ganze Probe verteilt auf den Plättchen zu finden sind. Die mit 10 mM EDTA mineralisierte Probe zeigt kleinere Plättchen (2-9 μm) mit abgerundeten Kanten. Die Größenordnungen der Plättchen, die mit 15 mM EDTA mineralisiert wurden, sind annähernd gleich zur vorherigen Probe. Die Plättchen sind diesmal weniger

abgerundet, aber dennoch nicht so kantig wie bei der Kontrollprobe und der Probe mit 5 mM EDTA Zusatz.

Die bei pH 8 mineralisierten Calciumphosphate unterscheiden sich abgesehen von der Kontrollprobe nicht signifikant voneinander. Die Kontrollprobe zeigt wie zuvor beschrieben, sowohl kleine Plättchen als auch mikrometergroße dichte Blöcke. Sobald bei der Mineralisation EDTA zugesetzt wird, sind keine Plättchen mehr erkennbar, sondern nur noch die großen Blöcke. Wie schon bei der Mineralisation mit NTA festgestellt wurde, scheinen diese Blöcke im Laufe des Trocknungsvorganges zu brechen. Größere Vergrößerungen zeigen auch hier, dass diese Blöcke aus vielen kleinen Nanopartikeln zusammengesetzt sind.

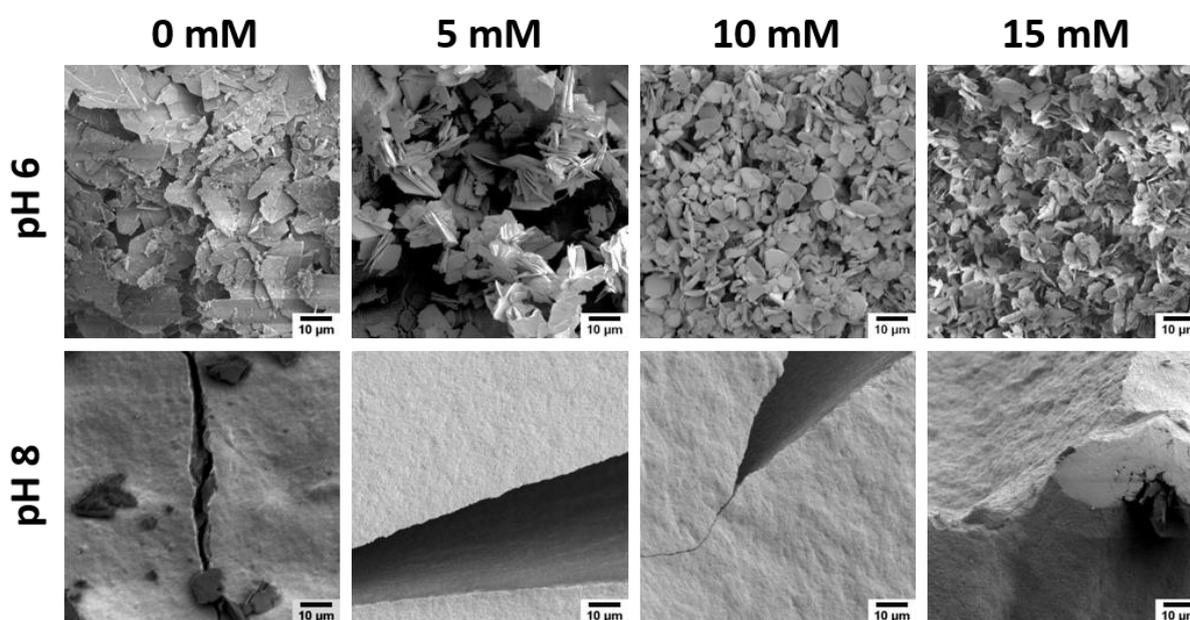


Abbildung 40: Repräsentative SEM Bilder der mit und ohne EDTA mineralisierten Calciumphosphate bei pH 6 und 8.

Die Röntgenpulverdiffraktogramme der mineralisierten Hybridmaterialien mit und ohne Zusatz von EDTA sind in Abbildung 41 dargestellt. Bei den bei pH 6 mineralisierten Proben konnten lediglich XRD Aufnahmen von der Kontrollprobe und der Probe mit 5 mM EDTA gemacht werden. Die Proben mit 10 und 15 mM EDTA konnten aufgrund der geringen isolierten Probenmenge nicht mittels XRD vermessen werden. Die beiden bei einem pH-Wert von 6 und alle bei einem pH-Wert von 7 (0, 5, 10, 15 mM EDTA) mineralisierten Proben, weisen die für DCPD (ICDD 00-009-0077) typischen Reflexe bei 11,6 (0 2 0); 20,9 (0 2 1); 23,4 (0 4 0); 29,3 (0 4 1); 30,5 (-2 2 1) und 34,1 (-2 2 0) auf.

Die Calciumphosphate mineralisiert bei einem pH-Wert von 8 in Anwesenheit von EDTA (5, 10 und 15 mM) zeigen Reflexe bei 25,9 (0 0 2); 28,5 (2 1 0); 32,1 (2 1 1); 33,9 (2 0 2);

39,6 (3 1 0); 46,6 (2 2 2); 49,5 (2 1 3); 53,2 (0 0 4) und 64,1 (3 0 4) oder (3 2 3), die eindeutig HAP zugeordnet werden können. Wie bereits oben erwähnt weist die Kontrollprobe bei pH 8 Reflexe auf, die sowohl als DCPD als auch als HAP (ICDD 00-001-1008) identifiziert werden können. Bei pH 9 können alle auftretenden Reflexe dem HAP zugeordnet werden.

Diese Ergebnisse werden durch die IR Daten bestätigt (Abbildung 41). Die Proben, die bei einem pH-Wert von 6 und 7 und EDTA Konzentrationen von 0, 5, 10 und 15 mM mineralisiert wurden, zeigen die für DCPD typischen Banden bei 3537, 3271, 3159, 1649, 1207, 1136, 1061, 987, 793, 660, 577 und 528 cm^{-1} (Tabelle 11 im Anhang). Die bei 10 mM EDTA und einem pH-Wert von 7 mineralisierte Probe weist außer die für DCPD typischen Banden zusätzliche Banden bei 2951, 2916, 2871, 2839, 1452 und 1377 cm^{-1} auf. Diese Banden können auf das Vorhandensein von EDTA in der Probe zurückgeführt werden.

Die genauen Zuordnungen der einzelnen IR-Banden erfolgte bereits für die mit NTA mineralisierten Hybridmaterialien. An dieser Stelle wird aufgrund dessen nur die jeweilige Kristallphase zugeordnet. Die genauen Wellenzahlen der einzelnen IR-Banden für die mit EDTA mineralisierten Proben kann Tabelle 11-13 im Anhang entnommen werden.

Die Kontrollprobe bei pH 8 weist wie bereits oben beschrieben, sowohl Banden für DCPD als auch für HAP auf. Die bei pH 8 mit EDTA mineralisierten Proben und alle bei pH 9 mineralisierten Hybridmaterialien können dem HAP zugeordnet werden. Der einzige Unterschied ist, dass die bei pH 8 mineralisierten Proben und die Kontrollprobe bei pH 9 eine zusätzliche Bande zwischen 1634-1641 cm^{-1} aufweisen, die auf absorbiertes Wasser schließen lässt. Weiterhin weisen diese Proben eine zusätzliche Bande zwischen 3000-3500 cm^{-1} auf, die durch die OH-Streckschwingung entweder von Wasser oder des EDTA Moleküls verursacht wird.

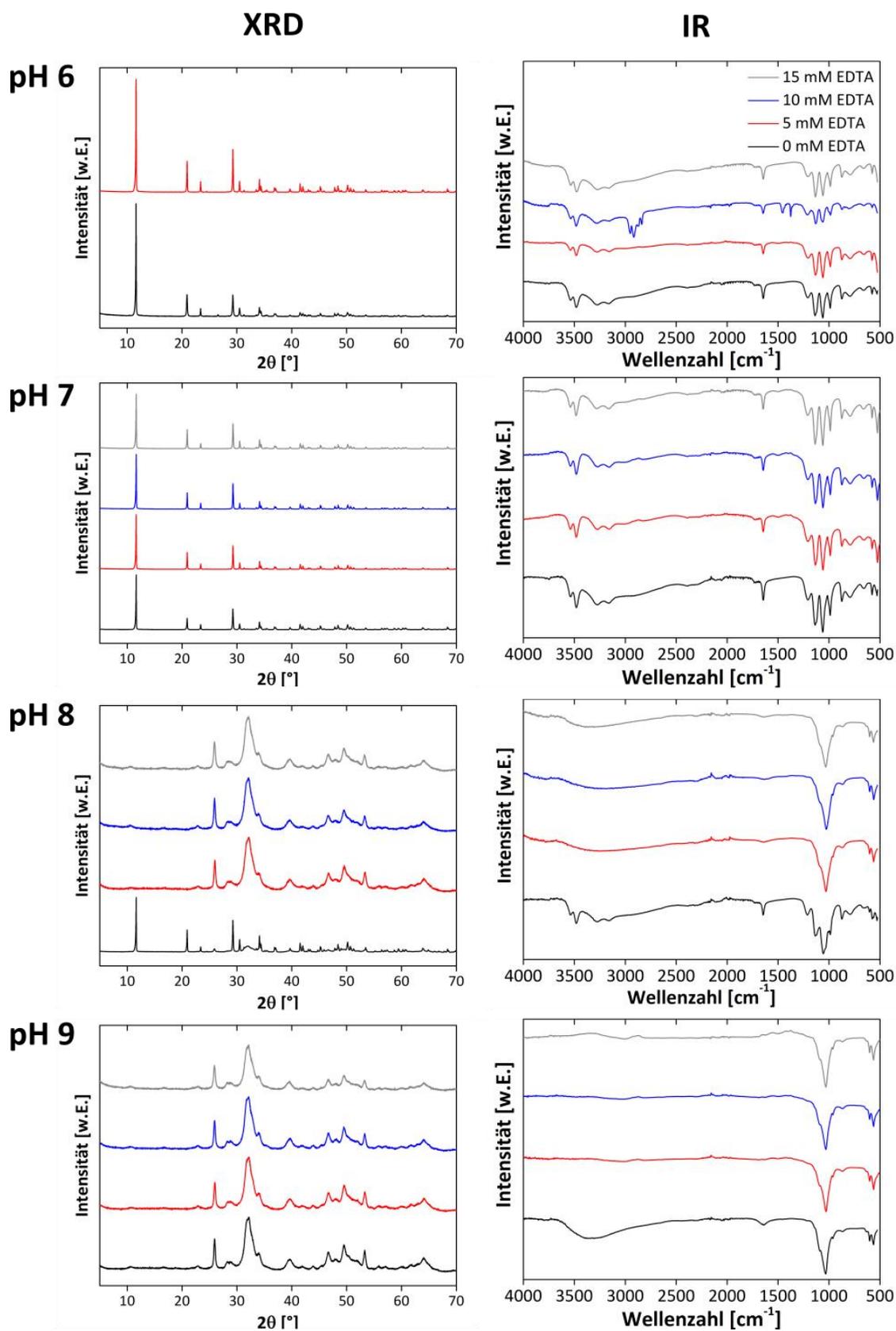


Abbildung 41: Röntgendiffraktogramme und IR-Spektren von Proben mineralisiert bei verschiedenen EDTA Konzentrationen (0, 5, 10 und 15 mM) und pH-Werten (6 – 9).

In Abbildung 42 sind die pH-Kurven und Leitfähigkeitsmessung bei verschiedenen pH-Werten und EDTA Konzentrationen gezeigt. Da die pH-Kurven auch in diesem Fall deutlich besser aufgelöst sind als die Leitfähigkeitskurven, wird lediglich der Verlauf der pH-Kurven detailliert erläutert.

Die pH-Kurven, die bei einem pH-Wert von 6 bei verschiedenen EDTA Konzentrationen (0, 5, 10 und 15 mM) mineralisierten Proben unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Der Anfangs-pH-Wert liegt zwischen 5,97 und 6,04. Nach der Zugabe der Phosphatkomponente sinkt der pH-Wert bei den Proben mit 0 und 5 mM EDTA kurz auf 5,92 und 5,99. Anschließend steigt der pH-Wert aber gleich wieder auf 6,03 beziehungsweise 6,04 an. Bei einer EDTA Konzentration von 10 und 15 mM führt die Zugabe der Phosphatlösung zum Ansteigen des pH-Wertes auf 6,05 und 6,09. Danach kommt es zunächst zu einer Ausbildung eines Plateaus, wobei dieses mit zunehmender EDTA Konzentration länger zu beobachten ist. Bei der Kontrollprobe ist das Plateau nur schwach ausgebildet und befindet sich für etwa 0,5 min bei einem pH-Wert von 6,03. Bei einer Konzentration von 5 mM EDTA existiert das Plateau bei einem pH-Wert von 6,03 für etwa 1,5 min, bei 10 mM EDTA bei einem pH-Wert von 6,05 für 2,5 min und bei 15 mM bei 6,09 für 3 min. Nachdem dieses Plateau überwunden ist, sinkt der pH-Wert abrupt. Dabei erfolgt dieser Abfall mit steigender EDTA Konzentration weniger steil. Dieser pH-Abfall ist bei 0 mM EDTA nach ca. 8 min bei einem pH-Wert von 4,95, bei 5 mM EDTA nach 11 min bei einem pH-Wert von 5,11, bei 10 mM EDTA nach 14 min bei einem pH-Wert von 5,32 und bei 15 mM EDTA nach 16 min bei einem pH-Wert von 5,45 beendet. Anschließend fällt der pH-Wert deutlich langsamer, sodass der pH-Wert bei 0 mM EDTA nach 14 min bei 4,89, bei 5 mM EDTA nach 20 min bei 5,00, bei 10 mM EDTA nach 30 min bei 5,20 und bei 15 mM EDTA nach 30 min bei 5,33 liegt. Bis zum Ende der Mineralisationszeit von 60 min sinkt der pH-Wert lediglich leicht auf 4,86 für 0 mM, 4,95 für 5 mM EDTA, 5,15 für 10 mM EDTA und 5,27 für 15 mM EDTA.

Die bei pH 7 aufgenommenen pH-Kurven bei EDTA Konzentrationen von 0-15 mM zeigen prinzipiell den gleichen Kurvenverlauf. Nach der Zugabe der Diammoniumhydrogenphosphatlösung fällt der pH-Wert zunächst stark und dann weniger stark bis ein Minimum erreicht ist. Danach steigt der pH-Wert wieder an und ein Maximum bildet sich aus. Nach Überqueren dieses Maximums fällt der pH-Wert zunächst ab und sinkt dann nur noch leicht bis zum Ende der Mineralisation. Der pH-Wert vor Beginn der Mineralisation liegt zwischen 6,97-7,10 und fällt nach der Zugabe der Phosphatkomponente

auf 6,45 für 0 mM EDTA, auf 6,66 für 5 mM EDTA, auf 6,72 für 10 mM EDTA und auf 6,74 für 15 mM EDTA. Für die beiden höheren EDTA Konzentrationen erfolgt daraufhin ein deutlich langsamerer Abfall des pH-Wertes bis es zur Ausbildung eines Minimums kommt. Dieses befindet sich bei 10 mM EDTA bei 2,7 min und einem pH-Wert von 6,5 und bei 15 mM EDTA bei 3,5 min und einem pH-Wert von 6,69. Bei den beiden niedrigeren Konzentrationen fällt der pH-Wert bis zum Erreichen des Minimums deutlich stärker und erscheint für 0 mM EDTA nach 1,2 min und einem pH-Wert von 6,27 und bei 5 mM EDTA nach 1,9 min und einem pH-Wert von 6,37. Das Minimum verschiebt sich mit steigender EDTA Konzentration zu höheren Mineralisationszeiten und höheren pH-Werten.

Nach diesem Minimum steigt der pH-Wert wieder an, wodurch es zur Ausbildung eines Maximums kommt. Dieses befindet sich genau wie das Minimum mit steigenden EDTA Konzentrationen bei höheren Mineralisationszeiten und pH-Werten. Für 0 mM EDTA ist das Maximum nach 1,85 min bei einem pH-Wert von 6,3, für 5 mM EDTA nach 2,98 min bei einem pH-Wert von 6,44, bei 10 mM EDTA nach 4,2 min bei einem pH-Wert von 6,58 und bei 15 mM EDTA nach 5,2 min und einem pH-Wert von 6,71 zu finden.

Anschließend findet ein steiler Abfall des pH-Wertes statt, der mit abnehmender EDTA Konzentration deutlich stärker erfolgt. Zusätzlich ist bei niedrigen EDTA Konzentrationen von 0 und 5 mM in diesem Abfall eine Schulter nach 3 min und einem pH-Wert von 5,9 für 0 mM EDTA und nach 6 min und einem pH-Wert von 6,03 für 5 mM EDTA zu erkennen. Der pH-Abfall ist für 0 mM EDTA nach 10 min und einem pH-Wert von 5,55, für 5 mM EDTA nach 10,5 min und einem pH-Wert von 5,87, für 10 mM EDTA nach 6,5 min und einem pH-Wert von 6,29 und für 15 mM EDTA nach 10 min und einem pH-Wert von 6,48 zu beobachten. Bis zum Mineralisationsende nach 30 min sinkt der pH-Wert nur noch minimal auf 5,51 für 0 mM EDTA, auf 5,78 für 5 mM EDTA, auf 6,11 für 10 mM EDTA und auf 6,45 für 15 mM EDTA.

Die pH-Kurven bei der Mineralisation von CP bei einem pH-Wert von 8 zeigen für die verschiedenen EDTA Konzentrationen einen unterschiedlichen Kurvenverlauf. Der AnfangspH-Wert liegt zwischen 7,97-8,05 und fällt nach Mineralisationsstart innerhalb der ersten 0,5 min drastisch. Dieser Abfall ist für die niedrigeren EDTA Konzentrationen ausgeprägter. Der pH-Wert befindet sich dabei für 0 mM EDTA bei 6,81, für 5 mM EDTA bei 6,97, für 10 mM EDTA bei 7,15 und für 15 mM EDTA bei 7,32. Bei EDTA Konzentrationen von 0 und 5 mM ist im Kurvenverlauf ähnlich wie bei pH 7 zunächst ein Minimum und dann ein Maximum zu sehen. Bei 0 mM EDTA befindet sich das Minimum bei einem pH-Wert von 6,68 und einer

Mineralisationszeit von 2 min und bei 5 mM EDTA bei einem pH-Wert von 6,81 und einer Mineralisationszeit von 4,27 min. Das Maximum bildet sich nach 3,1 min und einem pH-Wert von 6,72 für 0 mM EDTA und nach 6,48 min und einem pH-Wert von 6,9 für 5 mM EDTA aus. Es findet wiederum die Verschiebung des Minimums als auch des Maximums zu höheren Reaktionszeiten und pH-Werten statt. Bei EDTA Konzentrationen von 10 und 15 mM ist sowohl das Minimum als auch das Maximum verschwunden. Der steile pH-Wert Abfall nach Start der Mineralisation ist von einem schwachen pH-Wert Abfall gefolgt. Dieser ist bei einer EDTA Konzentration von 10 mM früher nach 8,4 min und einem pH-Wert von 6,99 beendet als bei einer EDTA Konzentration von 15 mM. Bei dieser Konzentration findet der schwache Abfall sein Ende erst nach 9,4 min und einem pH-Wert von 7,14. Anschließend sinkt für alle EDTA Konzentrationen der pH-Wert wieder stärker, wobei der Abfall für die tieferen Konzentrationen ausgeprägter ist. Dieser Abfall endet für 0 mM EDTA nach 5 min und einem pH-Wert von 6,29, für 5 mM EDTA nach 6,65 und einem pH-Wert von 8,82, für 10 mM EDTA nach 10,78 und einem pH-Wert von 6,78 und für 15 mM nach 11,02 min und einem pH-Wert von 7,00. Im Fall der 0 und 5 mM EDTA Konzentrationen steigt der pH-Wert bis zum Ende der Mineralisation nach 30 min leicht auf 6,41 und 6,67 an. Für die beiden restlichen Konzentrationen sinkt der pH-Wert hingegen leicht auf 6,65 für 10 mM EDTA und auf 6,69 für 15 mM EDTA.

Die pH-Kurven bei einem pH-Wert von 9 zeigen lediglich zwei starke Abfälle. Der erste Abfall erfolgt nach dem Beginn der Mineralisation durch die Zugabe der Phosphatlösung. Zunächst liegt der pH-Wert vor Beginn der Mineralisation zwischen 8,94 und 8,98. Nachdem mit der Mineralisation begonnen wurde, fällt der pH-Wert innerhalb der ersten Minute stark, wobei dieser mit steigender EDTA Konzentration weniger steil abfällt. Bei einer EDTA Konzentration von 0 mM fällt der pH-Wert auf 7,94, bei 5 mM EDTA auf 8,07, bei 10 mM EDTA auf 8,41 und bei 15 mM EDTA auf 8,48 ab. Die pH-Kurven bei EDTA Konzentrationen zwischen 0 und 10 mM weisen daraufhin ein Plateau auf, welches mit steigender EDTA Konzentration deutlich länger existiert.

Bei 0 mM EDTA besteht das Plateau bei einem pH-Wert zwischen 7,94-7,98 bis zu einer Mineralisationszeit von 13,6 min, bei 5 mM EDTA zwischen pH-Werten von 8,07-8,06 bis 23,3 min und bei 10 mM EDTA zwischen pH-Werten von 8,41-8,39 bis 37,1 min. Bei der Probe die in Anwesenheit von 15 mM EDTA mineralisiert wurde folgt nach dem pH-Abfall zunächst ein Anstieg des pH-Wertes von 8,48 auf 8,58 innerhalb der ersten 10 min. Anschließend

kommt es auch hier zur Ausbildung eines Plateaus bei einem pH-Wert zwischen 8,58-8,57 und einer Mineralisationszeit zwischen 10,2-45,8 min. Bei der Kontrollprobe fällt anschließend der pH-Wert steil auf 7,6 bei einer Reaktionszeit von 20,4 min und bei 5 mM EDTA weniger steil auf 7,89 nach 32,9 min. Der pH-Abfall für die beiden höheren Konzentrationen fällt deutlich schwächer aus. Bei 10 mM EDTA erfolgt dieser bis zu einer Mineralisationszeit von 45,1 min auf einen pH-Wert von 8,31 und bei 15 mM EDTA auf 8,53 nach 51,1 min. Letztendlich sinkt für alle EDTA Konzentration der pH-Wert leicht bis zum Ende der Mineralisation nach 70 min. Der pH-Wert bei 0 mM EDTA liegt bei 7,56, bei 5 mM EDTA bei 7,86, bei 10 mM EDTA bei 8,28 und bei 15 mM EDTA bei 8,52.

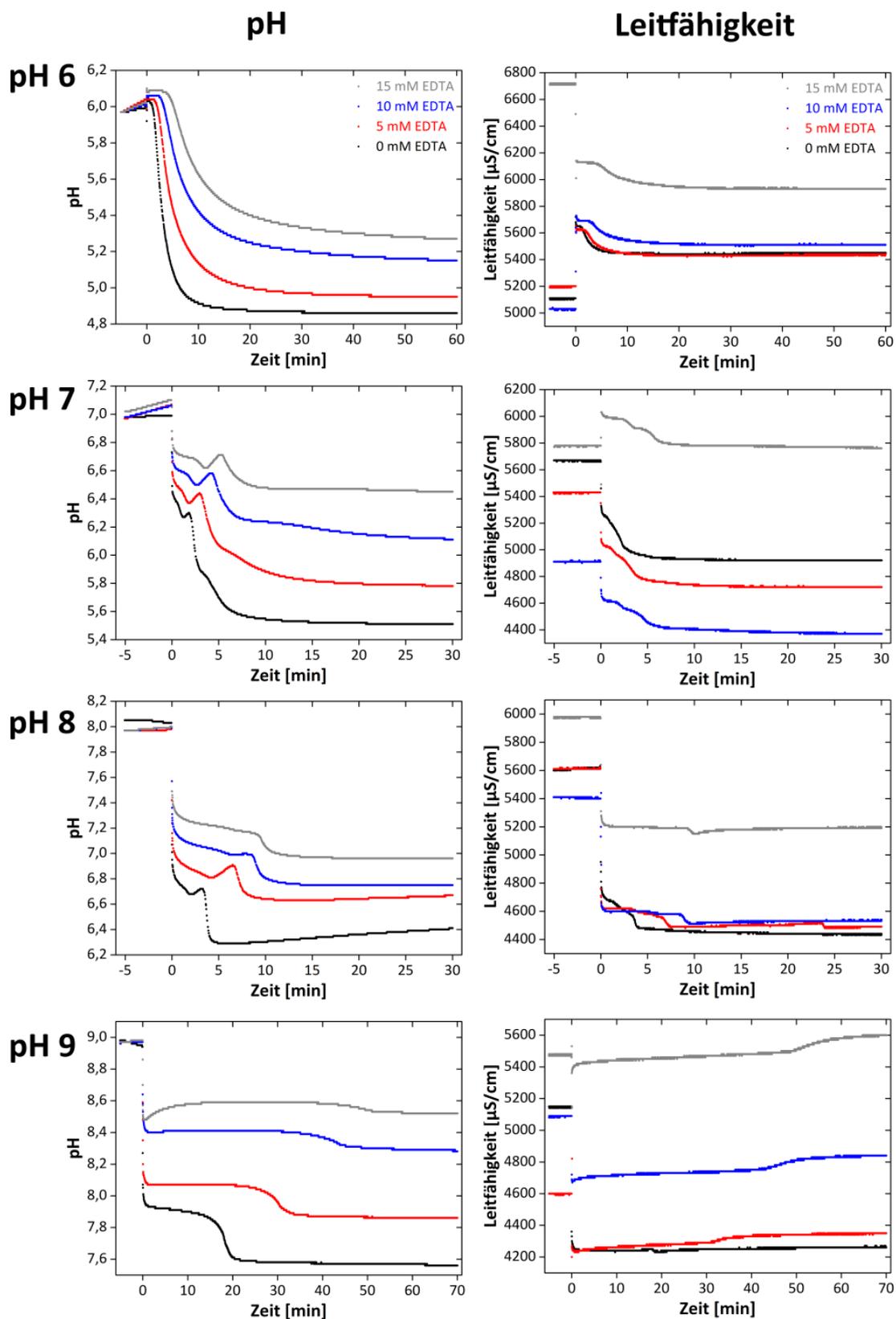


Abbildung 42: pH- und Leitfähigkeitsmessungen von Proben mineralisiert bei verschiedenen EDTA Konzentrationen (0, 5, 10 und 15 mM) und pH-Werten (6 – 9). Der Zeitpunkt „0“ kennzeichnet den Start der Mineralisation durch die Zugabe der Phosphatkomponenten. Der Ausgangs-pH-Wert der Calciumkomponenten, welche die entsprechende Konzentration an EDTA enthält, wurde zuvor über 5 min aufgenommen. Es ist zu beachten das die Mineralisationszeiten unterschiedlich sind (60 min bei pH 6, 30 min bei pH 7 und 8, 70 min bei pH 9).

6.3 Diskussion der Mineralisation in Bulklösung

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Mineralisation von CP in Bulklösung mit NTA und EDTA als Additive diskutiert. NTA ist ein vierzähliger und EDTA ein sechszähliger Chelatligand.

Beide Additive beeinflussen die Bildung der jeweiligen Kristallphase unterschiedlich stark. Das wird unter anderem durch die XRD und IR Messungen sichtbar. Für einen pH-Wert von 6 und 7 konnte, mit Ausnahme der Proben mineralisiert mit 10 und 15 mM NTA bei einem pH-Wert von 7, ausschließlich DCPD identifiziert werden. Die Proben mit 10 und 15 mM NTA und für die Kontrollprobe bei pH 8 wurde neben DCPD zusätzlich HAP gefunden. Bei höheren pH-Werten von 8 und 9 wurde für beide Additive nur HAP gebildet.

Die Anwesenheit des jeweiligen Additivs bei der Mineralisation von CP beeinflusst die Morphologie des gebildeten Hybridmaterials. So zeigen beispielsweise die Kontrollproben im SEM bei einem pH-Wert von 6 und 7 und zum Teil bei einem pH-Wert von 8, die für DCPD typischen Plättchen. Erfolgt die Mineralisation in Gegenwart von NTA, zeigen die gebildeten DCPD Plättchen bei einem pH-Wert von 6 und 7 Stäbchen und keine Plättchen. EDTA scheint einen geringeren Einfluss auf die Morphologie zu haben, aber auch hier ist ein Effekt durch die Abrundung der Plättchen bei einem pH-Wert von 6 und 7 zu erkennen. Die für DCPD typischen Plättchen wurden bereits viele Male in der Literatur beobachtet.^[53,70,173,175,178,183,191,192]

Für höhere NTA Konzentrationen bei einem pH-Wert von 7 sind bei 10 mM große Blöcke aus kleinen Nanopartikeln ersichtlich und bei 15 mM wiederum große Blöcke, die aber augenscheinlich aus kleinen Plättchen bestehen. Da die letzte Probe im XRD und IR als Gemisch aus DCPD und HAP identifiziert wurde, können die Plättchen dem DCPD und die Blöcke dem HAP zugeordnet werden.

Die mineralisierten HAP Hybridmaterialien zeigen mit und ohne Additiv die gleiche Morphologie. Diese zeigt große Blöcke, die aus kleinen Nanopartikeln bestehen und in den meisten Fällen Rissstellen aufweisen. Ein Unterschied zwischen NTA und EDTA ist in diesem Fall nicht zu beobachten.

Es wurde bereits des Öfteren gezeigt, dass Polyelektrolyte die Morphologie bei der Mineralisation von CP beeinflussen können.^[43,52,155,168,193,194] So existieren bereits Studien zum Einfluss von Aminosäuren beziehungsweise Polyaminosäuren.^[8,28,154,195,196]

Shkilnyy et al.^[53] zeigten, dass auch Polykationen effiziente Wachstumsmodifikatoren sind. Sie untersuchten den Einfluss von Poly(ethylenoxid)-*b*-poly(L-lysin) (PEO-*b*-PLE) und Poly(ethylenoxid)-*b*-poly(L-glutamat) (PEO-*b*-PLK) Blockcopolymeren auf die Mineralisation von CP. In Abwesenheit dieser Blockcopolymeren zeigt die Mineralisation die zu erwartenden Morphologien bei pH 5 für DCPD. In Anwesenheit von PEO-*b*-PLK konnte bei pH 5 kein nennenswerter Einfluss auf die Morphologie beobachtet werden. Die DCPD Plättchen sind jedoch deutlich kleiner und bestehen aus dickeren plattenartigen Strukturen sobald PEO-*b*-PLE bei der Mineralisation anwesend war. Weiterhin sind diese Platten im Vergleich zur Kontrollprobe weniger kantig und abgerundet. Sie schlussfolgerten daraus, dass das PEO-*b*-PLE besser mit dem Kristall beziehungsweise den Phosphationen wechselwirken und die Morphologie beeinflussen kann.^[53] Die beobachteten Morphologien ähneln denen, die wir für die DCPD Plättchen in Anwesenheit von EDTA erhalten haben.

Da es sich in unserem Fall um negativ geladene Additive handelt, wird die Veränderung der Morphologie vermutlich durch die Wechselwirkungen mit den Kristallen oder den Calciumionen hervorgerufen. Beide Additive scheinen in der Lage zu sein, an der Kristalloberfläche zu adsorbieren. Dabei zeigt das NTA einen größeren Einfluss auf die gebildete Morphologie. Beim EDTA kommt es bei den DCPD Platten lediglich zu einer Abrundung der Kanten. Das könnte bedeuten, dass beim EDTA die Adsorption über den gesamten Kristall erfolgt, wodurch das Wachstum des DCPDs kontrollierter abläuft. Das NTA hingegen scheint bevorzugt an einer Achse des DCPD Kristalls zu adsorbieren, wodurch das Wachstum in diese Richtung unterdrückt wird und es zur Bildung dieser Stäbchen kommt.

Eine solche Adsorption wurde bereits von Bigi et al. beschrieben, die wie bereits zuvor erwähnt durch die Adsorption von Polyelektrolyten in [100] Richtung des OCP Kristalls eine Spaltung zum HAP verhindern beziehungsweise hemmen konnten.^[154]

Dieser Einfluss konnte bei uns jedoch nicht beobachtet werden, da sowohl die Proben mit als auch ohne Additiv bei höheren pH-Werten zu HAP führten und kein OCP beobachtet wurde. Dabei konnte kein Einfluss der beiden Additive auf die Morphologie beobachtet werden. Es konnte für alle HAP Proben dicke, dichte Blöcke, zusammengesetzt aus nanometergroßen Partikeln beobachtet werden. Eine solche Morphologie für HAP wurde bereits in einer vorherigen Studie beschrieben.^[192]

Salama et al. beobachteten für ihre HAP/Cellulose mineralisierten Proben ähnliche Blöcke und konnten mittels TEM Messungen zeigen, dass diese aus sphärischen Partikeln mit Durchmessern zwischen 10 und 30 nm bestehen.^[197]

Die Bildung der entsprechenden Kristallphase ist von der Temperatur, der Calcium- und Phosphatkonzentrationen, dem pH-Wert, der Ionenstärke und der Mineralisationszeit abhängig.^[70]

Anhand der pH- und Leitfähigkeitskurven ist es möglich im Laufe der Reaktion stattfindende Phasenumwandlungen bei den verschiedenen pH-Werten zu bestimmen. Eine genaue Zuordnung der einzelnen Zwischenstufen beziehungsweise der Kristallphasen ist nicht für alle pH-Werte einwandfrei möglich und kann teilweise nur spekuliert werden. Ein Abfall des pH-Wertes ist charakteristisch für die Fällung einer Kristallphase, wobei ein Anstieg im pH-Wert das Auflösen einer Kristallphase andeutet. Sind in einer pH-Kurve mehrere pH-Abfälle erkennbar, so spricht das für einen mehrstufigen Kristallisationsprozess.

Für alle pH-Werte wird ersichtlich, dass die jeweiligen Phasenumwandlungen mit steigender Additivkonzentration sowohl für EDTA als auch für NTA zu höheren Reaktionszeiten verschoben sind. Die einfachste Erklärung dafür wäre, dass mit höherer Additivkonzentration auch mehr Calciumionen komplexiert werden können. Dementsprechend sinkt das Ca/P Verhältnis und es steht weniger Calcium für die Mineralisation zur Verfügung, wodurch das CP langsamer und in einer geringeren Menge ausfällt. Da weniger CP ausfällt, werden zudem weniger Protonen frei, sodass der pH-Wert mit steigender Additivkonzentration zu höheren pH-Werten verschoben ist. Für pH-Werte über 8 liegen diese beim EDTA immer höher als beim NTA. Der Grund dafür liegt vermutlich in der höheren Zähigkeit von EDTA, welches dadurch die bei der Mineralisation von CP freiwerdenden Protonen besser abfangen kann.

Mittels Marvin Sketch konnte die Verteilung der Mikrospesies sowohl für EDTA als auch NTA bei verschiedenen pH-Werten abgeschätzt werden.^[162] Bei einem pH-Wert von 5 existiert beim EDTA hauptsächlich die Spezies mit vier deprotonierten Carboxylgruppen und einer protonierten Aminogruppe (ca. 87 %, Spezies 1). Bei weiteren 7,8 % sind drei der Carboxylgruppen deprotoniert und eine Aminogruppe protoniert (Spezies 2). Für rund 3 % sind wiederum alle Carboxylgruppen deprotoniert, jedoch diesmal sind beide Aminogruppen protoniert (Spezies 3). Mit steigendem pH-Wert nehmen sowohl Spezies 2 als auch Spezies 3 immer mehr ab. Spezies 1 steigt bis zu einem pH-Wert von etwa 6 auf 96 % an. Ab diesem pH-Wert fällt der prozentuale Anteil dieser Spezies, wobei nun vermehrt die Spezies mit vier

deprotonierten Carboxylgruppen auftritt (Spezies 4). So existieren beispielsweise bei einem pH-Wert von 8 ca. 65 % von Spezies 4 und nur noch etwa 35 % von Spezies 1. Bei pH 9 sind es schließlich 95 % von Spezies 4 und nur noch 5 % von Spezies 1 (Abbildung 43).

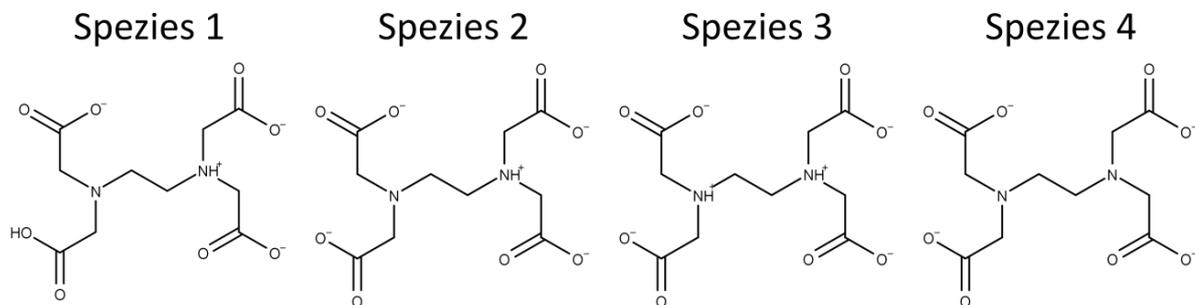


Abbildung 43: Mikrospezies von EDTA bei pH-Werten zwischen 5 und 9.

Beim NTA existieren ab einem pH-Wert von 5 nur zwei Mikrospezies, entweder mit zwei deprotonierten Carboxylgruppen (Spezies 1) oder drei deprotonierten Carboxylgruppen (Spezies 2). Bei pH-Wert 5 liegen etwa 16 % von Spezies 1 und ca. 84 % von Spezies 2 vor. Mit steigendem pH-Wert nimmt der prozentuale Anteil an Spezies 1 immer weiter ab und an Spezies 2 zu. Bei einem pH-Wert von 6 liegen ungefähr 98 % an Spezies 2 und nicht mal 2 % an Spezies 1 vor. Ab einem pH-Wert von 8 existiert fast ausschließlich nur noch Spezies 2 (Abbildung 44).

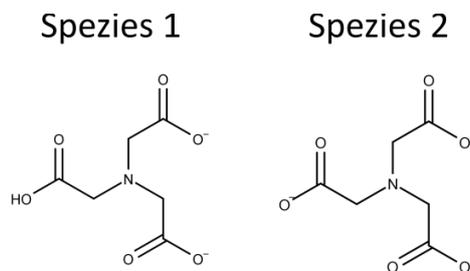


Abbildung 44: Mikrospezies von NTA bei pH-Werten zwischen 5 und 9.

Weiterhin ist bekannt, dass Polyelektrolyte die Kristallisation beeinflussen können und die Kinetik und die Eigenschaften der gebildeten Kristallphasen verändern können.^[69] Ein weiterer Erklärungsansatz kann in dem Stabilisierungsvermögen der beiden Additiv begründet werden.

Eine solche Stabilisierung wurde bereits bei der Mineralisation von CP in Anwesenheit von Citrat beobachtet. Chen et al.^[198] zeigten in einer Studie, dass die Mineralisation von CP zunächst in 3 Stufen unterteilt werden kann. Die erste Stufe umfasst die Bildung von ACP

direkt nach der Mischung der Calcium- und Phosphatlösung, die mit einem starken Abfall im pH-Wert begleitet wird. Anschließend bleibt der pH-Wert solange stabil, bis es zur Kristallisation von HAP kommt. Das Plateau spiegelt also die Induktionszeit für die Keimbildung von HAP wieder. In der zweiten Stufe findet erneut ein schneller Abfall des pH-Wertes statt, der durch die eintretende HAP Kristallisation hervorgerufen wird. In der letzten Stufe findet lediglich ein schwacher pH-Wert Abfall statt, der durch das Kristallwachstum des HAPs durch die sogenannte Ostwald Reifung gekennzeichnet ist.^[198] Das gleiche Stufenverhalten wurde durch andere Arbeitsgruppen bestätigt.^[199,200]

Anhand der pH-Kurven konnten Chen et al. weiterhin zeigen, dass die Induktionszeit für die Keimbildung des HAPs in Anwesenheit des Citrats verlängert wird. Mittels IR Spektroskopie konnten sie verdeutlichen, dass das Citrat während der Mineralisation mit dem ACP assoziiert ist und das Citrat das ACP stabilisiert.^[198] Das Citrat bildet mit den Calciumionen einen Chelatkomplex. Dadurch reduziert es die Anzahl der freien Calciumionen in Lösung, setzt die Übersättigung für die ACP und die HAP Bildung herab und übt demnach auch einen Einfluss auf die Kristallisationskinetik aus. Sie führten ein weiteres Kontrollexperiment durch, in dem sie die gleichen Aktivitäten der Calcium- und Phosphationen wie bei der Mineralisation in Anwesenheit des Citrates einsetzten. Es stellte sich heraus, dass dies keinen Einfluss auf die Induktionszeit hat und deshalb auch nicht für die Stabilisierung des ACPs verantwortlich ist. Die Stabilisierung kann also entweder durch die Integration des Citrats in das ACP oder durch die Adsorption des Citrats an der Oberfläche des ACP erfolgen. Sie konnten zeigen, dass sowohl das eine als auch das andere stattfindet, jedoch spielt die Assoziation an der Oberfläche eine größere Rolle bei der Stabilisierung von ACP. Sie zeigten weiterhin, dass die Induktionszeit mit steigender Citratkonzentration zunimmt. Der Grund dafür ist, dass mehr Citrat an der ACP Oberfläche adsorbiert wird, dieses die Reaktionsstellen an der ACP Oberfläche blockiert und das ACP besser stabilisiert wird.^[198]

Eine Studie von Hu et al. zeigte außerdem, dass die drei Carboxylgruppen des Citratmoleküls bei pH-Werten zwischen 7,5-8,0 vollständig deprotoniert vorliegen und dadurch stark an die Calciumionen auf der HAP Oberfläche adsorbieren können. Die Adsorption des Citrats verhindert das weitere Kristallwachstum des HAP in diesen Adsorptionsbereich. Zusätzlich sorgen die an der Oberfläche gebundenen Citratmoleküle für eine negativ geladene Oberfläche. Dadurch kommt es zur elektrostatischen Abstoßung der Phosphationen, wodurch zum einen das Kristallwachstum gestoppt wird und zum anderen

verhindert die elektrostatische Abstoßung die Aggregation der HAP Kristalle. Diesen Mechanismus belegten sie mit Hilfe von XRD, ^1H - und ^{31}P -NMR.^[201]

Diese Erklärungsansätze könnten auch für die Mineralisation von CP in Anwesenheit der beiden Additive NTA und EDTA gelten. Für alle pH-Werte ist eine Zunahme der Induktionszeit für die HAP Bildung (pH 8 und 9) und für die Bildung von DCPD (pH 6 und 7) zu erkennen. Der Grund dafür könnte zum einen in der besseren Stabilisierung der gebildeten Vorläuferphasen durch das jeweilige Additiv hervorgerufen werden. Zum anderen könnte auch das zunehmende Komplexierungsvermögen der Additive mit zunehmender Additivkonzentration eine Rolle spielen. Vermutlich spielen beiden Faktoren eine entscheidende Rolle. Welcher dieser beiden überwiegt, kann jedoch nicht eindeutig geklärt werden.

Die pH-Kurven beobachtet von Chen et al. bei der Mineralisation von CP ähneln unseren pH-Kurven bei pH 9.^[198] Da bei pH 9 beide Additive in ihrer deprotonierten Form vorliegen, können die deprotonierten Carboxylgruppen besser an der ACP Oberfläche adsorbieren und somit stabilisieren. Es kann kein großartiger Unterschied zwischen den beiden Additiven beobachtet werden. Bei einer Konzentration von 10 mM NTA oder EDTA existiert die ACP Kristallphase bis zu einer Mineralisationszeit von ca. 35 min und hat sich dann nach etwa 45 min in HAP umgewandelt. Bei den anderen Additivkonzentrationen gibt es auch keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Additiven. Der einzige Unterschied liegt darin, dass die Umwandlungen und die pH-Werte am Ende der Mineralisation für EDTA zu leicht höheren pH-Werten verschoben sind. Dieser Sachverhalt kann durch das die höhere Zähigkeit von EDTA begründet werden, welches dadurch die bei der Mineralisation von CP freigesetzten Protonen besser abfangen kann.

Die pH-Kurven bei pH 8 zeigen, dass das NTA das ACP deutlich stärker zu stabilisieren scheint als das EDTA. Bei einer Konzentration von 10 mM ist in Anwesenheit des NTAs die ACP Vorläuferphase 2 min länger stabil als beim EDTA. Bei einer höheren Konzentration von 15 mM ist die Induktionszeit für die HAP Bildung beim NTA sogar 4 min länger als beim EDTA. Der Grund dafür könnte durch die verschiedenen Deprotonierungsgrade begründet sein. Das NTA liegt bei pH 8 mit drei deprotonierten Carboxylgruppen vollständig deprotoniert vor. Das EDTA hingegen liegt nur zu 2/3 mit vier deprotonierten Carboxylgruppen und zu 1/3 mit drei deprotonierten Carboxylgruppen und einer protonierten Aminogruppe vor. Die letzte Spezies sorgt vermutlich dafür, dass aufgrund der Abstoßung zwischen der protonierten Aminogruppe

und den deprotonierten Carboxylgruppe, das EDTA nicht so gut an die ACP Oberfläche adsorbieren kann. Dadurch kann das EDTA die Phasenumwandlung zum HAP nicht so intensiv verzögern verglichen zum NTA.

Außerdem ist sowohl bei der Kontrollprobe als auch in Anwesenheit von 5 mM EDTA im Kurvenverlauf anstatt des Plateaus ein Minimum und ein Maximum vorhanden. Ein solcher Kurvenverlauf ist typisch für das Vorhandensein zweier verschiedener ACP Phasen, ACP1 und ACP2.^[71,202] Beide ACP Phasen unterscheiden sich in ihrer Morphologie und Löslichkeit. ACP1 besteht dabei aus sphärischen Partikeln, wohingegen ACP2 eine flockenartige Struktur aufweist die zudem kristalliner ist.^[71,202,203] Es kann demnach vermutet werden, dass bei pH 8 bei einer EDTA Konzentration von 5 mM die Phasenumwandlungen in der Reihenfolge ACP1-ACP2-HAP ablaufen. Bei höheren EDTA Konzentrationen sowie in Anwesenheit des NTAs wären die gleichen Phasenumwandlungen möglich. Diese sind vermutlich schlechter aufgelöst oder überlagern einander. Eine weitere Möglichkeit wäre eine Phasenumwandlung von ACP zu HAP wie bei pH 9.

Für die Kontrollprobe bei pH 8 ist laut XRD und IR Messungen nach 4 h Mineralisation ein Gemisch aus DCPD und HAP zu finden. Es wäre demnach denkbar, dass es zunächst zur Bildung von ACP1 kommt, dieses sich dann über ACP2 in DCPD und allmählich in HAP umwandelt. Die zu Letzt beschriebene Phasenumwandlung könnte durch den erneuten Anstieg des pH-Wertes nach 5 min bis zum Ende der Messung nach 30 min erklärt werden.

Aus der Literatur ist bekannt, dass unter neutralen und basischen Bedingungen zunächst ACP gebildet wird, welches sich je nach Reaktionsbedingungen in OCP oder HAP umwandeln kann.^[69,70] Bei sauren pH-Werten gibt es in der Literatur zum einen Hinweise darauf, dass von Anfang an gleich DCPD gebildet wird, ohne dabei eine ACP Vorläuferphase zu durchlaufen.^[71] Es gibt auch Studien, bei denen eine ACP Vorläuferphase bei der Kristallisation von DCPD beobachtet wurde.^[28,204] Das würde auch mit den Beobachtungen von He et al. übereinstimmen, die bei der Umwandlung von ACP zu HAP zusätzlich eine DCPD Zwischenstufe beobachteten. Diese Zwischenstufe erklärten sie durch die unvollständige Umwandlung von ACP zu HAP.^[204] Peytcheva et al. machten ähnliche Beobachtungen bei der Untersuchung des Einflusses von Polyaspartaten auf das Mineralisationsverhalten von CP. Sie fanden zunächst die Bildung von ACP, welches sich über DCPD in HAP umwandelte.^[28] Es wäre also in unserem Fall denkbar, dass sich zunächst ACP bildet, welches sich über DCPD langsam in HAP umwandelt.

Der Kurvenverlauf bei pH 7 für die verschiedenen EDTA Konzentrationen und in Anwesenheit von 5 mM NTA kann durch die Phasenumwandlung von ACP1 über ACP2 zu DCPD erklärt werden. Die gleiche Sequenz kann auch für die Kontrollprobe als möglicher Verlauf angenommen werden.

Die XRD und IR Daten für die Proben mineralisiert mit 10 und 15 mM NTA bei pH 7 über 4 h zeigen ein Gemisch aus HAP und DCPD. Eine mögliche Sequenz der Phasenumwandlung wäre ACP-DCPD-HAP. Anhand der pH-Kurven wird jedoch nur eine Phasenumwandlung sichtbar. Die Ursache dafür könnte in der kurzen Messzeit von 30 min zu finden sein. Es könnte zum Beispiel sein, dass die Phasenumwandlung von DCPD zu HAP erst nach diesen 30 min stattfindet. Weiterhin wäre es möglich, dass die Phasenumwandlung von DCPD zu HAP in den pH-Kurven nicht gut aufgelöst wird und deshalb nicht zu sehen ist.

Bei pH 7 scheint NTA die Mineralisation anders als EDTA zu beeinflussen. Das NTA weist bei diesem pH-Wert fast ausschließlich die Spezies mit drei deprotonierten Carboxylgruppen auf. Mit dem freien Elektronenpaar am Amin besitzt NTA also vier mögliche Bindungsstellen für Calciumionen. Beim EDTA sieht es anders aus. Während bei höheren pH-Werten die Spezies mit vier deprotonierten Carboxylgruppen überwiegt (Spezies 4; bei pH 6,4 \approx 5 %), finden wir in diesem pH-Bereich vorwiegend die Spezies mit vier deprotonierten Carboxylgruppen und einer protonierten Aminogruppe (Spezies 1; bei 6,4 \approx 95 %). Im Vergleich zu höheren pH-Werten stehen durch die protonierte Aminogruppe nur noch fünf Bindungsstellen für Calciumionen zur Verfügung. Die positive Ladung an der Aminogruppe sorgt zusätzlich für eine Abstoßung. Das könnte dazu führen, dass das EDTA die gebildete ACP Vorläuferphase nicht mehr so gut stabilisieren kann wie das NTA. Aufgrund dessen ist die Induktionszeit für die HAP Bildung beim NTA deutlich länger als beim EDTA.

Bei den pH-Kurven bei pH 6 kann nicht genau geklärt werden, ob zunächst eine ACP Vorläuferphase ausfällt die sich dann zu DCPD umwandelt. Bei diesem pH-Wert findet die Mineralisation aufgrund des geringen pH-Wertes recht langsam statt. Das nach der Zugabe der Phosphatkomponente ausgebildete Plateau gibt demnach höchstwahrscheinlich die Induktionszeit für die DCPD Bildung an. Es könnte natürlich auch die Bildung von ACP anzeigen. Die genaue Ursache ist unklar. Dieses Plateau hält mit steigender Additivkonzentration länger an, zeigt aber keinen Unterschied für die beiden Additive.

Eine genaue Identifizierung der durchlaufenden Kristallphasen, wäre zum Beispiel durch zeitaufgelöste Cryo-TEM, Röntgenkleinwinkel- oder Röntgenweitwinkelstreuung möglich.

Wie bereits im Ergebnisteil beschrieben, zeigen die Leitfähigkeitskurven den gleichen Verlauf wie die pH-Kurven. Da bei der Mineralisation von CP Protonen frei werden und diese aufgrund ihrer geringen Größe eine hohe Äquivalenzleitfähigkeit besitzen, würde man eigentlich einen Anstieg in den Leitfähigkeitskurven erwarten. Dies ist jedoch nicht der Fall. Der Grund dafür ist vermutlich, dass die tieferen pH-Werte im Pufferbereich des Phosphatpuffers liegen. Die freiwerdenden Protonen reagieren also mit den HPO_4^{2-} -Ionen zu H_2PO_4^- -Ionen und werden somit abgefangen. Bei höheren pH-Werten von pH 8 und 9 reagieren die freiwerdenden Protonen mit den OH^- -Ionen zu Wasser. Da im Laufe der Mineralisation zusätzlich die Ca^{2+} - und PO_4^{3-} -Ionen entzogen werden, nimmt die Zahl der Ladungsträger und damit die Leitfähigkeit ab. Bei den Mineralisationen mit NTA und EDTA fangen diese beiden Additive zusätzlich die freiwerdenden Protonen ab, wodurch zum einen die höheren pH-Werte und zum anderen die höhere Leitfähigkeit mit steigender Additivkonzentration erklärt werden können.

7. Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die beiden verwendeten Amphiphile mit Cholesterol als hydrophoben Block, gute Template für die Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche sind. Mittels IRRAS, XPS, EDXS, SAED und HRTEM konnte die erfolgreiche Mineralisation von CP für beide Amphiphile an der Wasser/Luft-Grenzfläche nachgewiesen werden. Es konnte auch gezeigt werden, dass das Phasenverhalten der beiden Amphiphile und die bei der Mineralisation von CP gebildeten Kristallphasen nicht identisch sind. Beide Amphiphile üben demnach einen unterschiedlichen Einfluss auf den Mineralisationsverlauf aus.

Beim CHOL-HEM konnte sowohl nach 3 h als auch nach 5 h OCP als einzige Kristallphase mittels XPS, SAED, HRTEM und EDXS nachgewiesen werden. Das A-CHOL hingegen zeigte bei der Mineralisation von CP nach 1 h zunächst eine nicht eindeutig identifizierbare Vorläuferphase aus ACP, DCPD oder OCP. Diese wandelte sich dann nach 3 h und 5 h in ein Gemisch, bestehend aus OCP und ein wenig HAP um.

Die Schlussfolgerung daraus ist, dass das CHOL-HEM in der Lage ist, dass während der Mineralisation entstandene OCP zu stabilisieren. Dies geschieht vermutlich durch die Adsorption des Amphiphils bevorzugt an der OCP Oberfläche in [100] Orientierung. Dadurch wird die Spaltung entlang der c-Achse unterdrückt und die Hydrolyse zum HAP verhindert.

Das A-CHOL ist hingegen sterisch anspruchsvoller und kann wahrscheinlich aufgrund seiner Größe nicht so gut an der OCP Kristalloberfläche adsorbieren verglichen zum CHOL-HEM. Das CHOL-HEM kann also die Hydrolyse von OCP zu HAP besser unterdrücken als das A-CHOL. Da jedoch auch beim A-CHOL nach einer Mineralisationszeit von 5 h nur wenig HAP zu finden ist, wäre auch hier ein Stabilisierungseffekt der OCP Kristalle möglich. Um eine genaue Aussage darüber treffen zu können, sind jedoch zusätzliche Kontrollexperimente notwendig. Es wäre zum einen denkbar, die Mineralisationsexperimente über einen längeren Zeitraum durchzuführen. Diese könnten zeigen, ob das CHOL-HEM die Hydrolyse vom OCP zum HAP komplett unterdrückt. Außerdem könnte nachgewiesen werden, ob beim A-CHOL das OCP weiter zum HAP umgesetzt wird oder ob ein Gemisch beider Kristallphasen erhalten bleibt.

Weiterhin wurde festgestellt, dass das A-CHOL eine bessere Kontrolle bezüglich der Orientierung der gebildeten Kristalle aufweist. Beim A-CHOL wurden überwiegend gut

geordnete OCP Kristalle in [110] und HAP Kristalle in [-110] Richtung nachgewiesen. Beim CHOL-HEM konnte für das gebildete OCP hingegen keine Vorzugsorientierung bestimmt werden.

Um die Mineralisation an der Wasser/Luft-Grenzfläche mit der Mineralisation in Bulklösung zu vergleichen, wurden zusätzlich Mineralisationsexperimente in Bulklösung durchgeführt. Dazu wurden NTA und EDTA als Mineralisationsadditive verwendet, da NTA unter anderem der Struktur der hydrophilen Kopfgruppe des A-CHOLs ähnelt. Es konnte gezeigt werden, dass ein Vergleich der Mineralisation an der Grenzfläche mit der Mineralisation in Bulklösung nicht ohne weiteres möglich ist. Bei der Mineralisation in Bulklösung wird bei tiefen pH-Werten DCPD und bei höheren pH-Werten HAP gebildet. Diese wurde mittels XRD Messungen nachgewiesen und durch IR Messungen bekräftigt. Die Bildung von OCP wie an der Wasser/Luft-Grenzfläche konnte nicht beobachtet werden.

Es konnte auch gezeigt werden, dass beide Additive NTA und EDTA einen unterschiedlichen Einfluss auf den Verlauf der Mineralisation nehmen. So unterscheiden sich zum einen die Morphologien des gebildeten DCPDs und zum anderen wurde beispielsweise in Anwesenheit von 10 und 15 mM NTA neben DCPD auch HAP bei einem Ausgangs-pH-Wert von 7 nachgewiesen.

Da unser Augenmerk speziell auf der Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche liegt, könnten Folgeexperimente wie beispielsweise GIXD Messungen durchgeführt werden. Dadurch wäre es möglich, einen Überblick über die gebildeten Kristallphasen nach unterschiedlichen Reaktionszeiten direkt auf dem Trog zu erhalten.

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass auch einfache Amphiphile in der Lage sind, die Mineralisation von CP zu steuern. Amphiphile mit Cholesterol als hydrophoben Block bilden offensichtlich besonders stabile Monolagen an der Wasser/Luft-Grenzfläche. Eine Untersuchung des Einflusses ähnlicher Amphiphile mit unterschiedlichen hydrophilen Kopfgruppen auf das Mineralisationsverhalten von CP wäre durchaus interessant.

8. Experimentalteil

8.1. Verwendete Chemikalien

Tabelle 6: Liste der verwendeten Chemikalien.

Chemikalie	CAS-Nummer	Hersteller	Reinheit
2-Chloro-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin	3140-73-6	Acros Organics	98 %
Aceton	67-64-1	Fisher Scientific	Certified AR, Reag. Ph. Eur.
Aminotriester	136586-99-7	Frontier Scientific	
Benzol	71-43-2	VWR	AnalaR Normapur
Butandisäureanhydrid	108-30-5	Merck	for synthesis
Calciumnitrat-Tetrahydrat	13477-34-4	Carl Roth	≥ 99 %, p.a., ACS
Cholesterol	57-88-5	Applichem	BioChemica, ≥ 95 %
Cholesterylhemisuccinat (CHOL-HEM)	1510-21-0	Sigma Aldrich	≥ 98 %
Chloroform	67-66-3	Roth	Spectroscopic grade
Chlortrimethylsilan	75-77-4	Sigma Aldrich	≥ 99 %, GC
Cyclohexan	110-82-7	CHEMSOLUTE	p.a.
Diammoniumhydrogenphosphat,	7783-28-0	Alfa Aesar	≥ 98 %
Dichlormethan	75-09-2	CHEMSOLUTE	HPLC grade
Diethylether	60-29-7	CHEMSOLUTE	p.a.
Ethanol absolut	64-17-5	VWR	ACS, Reag. Ph. Eur.

Ethylacetat	141-78-6	CHEMSOLUTE	p.a.
Ethylendiaminotetraessigsäure- dinatriumsalzdihydrat	6381-92-6	Carl Roth	≥ 99 %, USP
Kieselgel 60	7631-86-9	AppliChem	
Methanol	67-56-1	Merck	LiChrosolv®
MilliQ® Wasser (0,055 µS/cm)			
Ameisensäure	64-18-6	J. T. Baker	98 %
N-Methylmorpholin	109-02-4	Fluka	≥ 98 %, purum, GC
Natrium	7440-23-5	Sigma Aldrich	≥ 99,8 %
Natriumchlorid	7647-14-5	CHEMSOLUTE	p.a.
Natriumhydrogencarbonat	144-55-8	Roth	> 99 %
Nitriloessigsäuretrinatriumsalz- monohydrat	18662-53-8	Sigma Aldrich	≥ 98 %
Pyridin	110-86-1	Sigma Aldrich	99 %, Reagent Plus
Salzsäure	7647-01-0	Merck	37 %
Tetrahydrofuran	109-99-9	AppliChem	HPLC grade

8.2 Verwendete Tröge

Während der Dissertation wurde mit verschiedenen Langmuir-Trögen gearbeitet. Die Kenngrößen der Tröge sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Bei Trog **A** handelt es sich um einen Langmuir-Trog mit einer beweglichen Barriere. An diesem Trog wurden alle Isothermen zur Charakterisierung des Phasenverhaltens der beiden zu untersuchenden Amphiphile aufgenommen.

Bei Trog **B** handelt es sich um einen Langmuir-Blodgett-Trog mit Dippervertiefung und zwei beweglichen Barrieren. An diesem Trog wurden die Mineralisationsexperimente durchgeführt. Unterhalb der Dippervertiefung des Troges wurde ein Variomag Mini Rührer

der Firma Thermo Fisher Scientific befestigt. Dadurch konnte die Subphase über die gesamte Mineralisationszeit mit Hilfe eines kleinen Rührmagneten in der Dippervertiefung gerührt werden.

Bei Trog **C** handelt es sich um einen Langmuir-Trog zur Aufnahme von IRRAS-Spektren. Der Probentrog besitzt zwei bewegliche Barrieren. An diesem Trog wurden zum einem die Amphiphile mittel IRRAS untersucht und zum anderem wurde die Mineralisation von CP zeitlich mittels IRRAS verfolgt.

Zur Aufnahme des Oberflächendrucks diente in allen Fällen ein Wilhelmy-Plättchen aus Filterpapier (Whatman grade 1).

Tabelle 7: Überblick der verwendeten Langmuir-Tröge.

Trog	max. Fläche [cm ²]	Subphasenvolumen [mL]	Kompressionsgeschwindigkeit [Å ² /min]
A	457,5	290	4,2
B	170,5	125	2,7
C	190,4	95	2,6

8.3 Verwendete Amphiphile

8.3.1 CHOL-HEM

Das Cholesterylhemisuccinat (CHOL-HEM) wurde von der Firma Sigma Aldrich erworben und mittels NMR, ATR-IR und Elementaranalyse untersucht. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 5,41 – 5,33 (m, 1H); 4,72 – 4,58 (m, 1H); 2,74 – 2,65 (m, 2H); 2,64 – 2,59 (m, 2H); 2,32 (d, 2H); 2,10 – 1,91 (m, 2H); 1,91 – 1,76 (m, 3H); 1,65 – 1,43 (m, 7H); 1,41 – 1,27 (m, 4H); 1,24 – 1,08 (m, 7H); 1,06 – 0,97 (m, 6H); 0,95 – 0,84 (m, 10H); 0,68 (s, 3H). ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 178,7; 177,9; 172,7; 171,7; 141,0; 138,9; 123,1; 77,92; 77,49; 77,15; 77,01; 75,0; 62,2; 56,8; 50,4; 42,8; 40,2; 39,9; 38,4; 37,4; 37,0; 36,6; 36,2; 32,3; 29,7; 29,4; 28,7; 28,1; 12,3. IR (ATR) ν = 488, 656, 798, 943, 982, 997, 1028, 1132, 1178, 1211, 1246, 1284, 1315, 1365, 1375, 1425, 1437, 1458, 1466, 1653, 1709, 1732, 2868, 2895, 3935 cm⁻¹. Elementaranalyse (C₃₁H₅₀O₄): berechnet (gefunden) C 76,50 % (76,50 %); H 10,35 % (10,41 %).

8.3.2 A-CHOL

Das Amphiphil A-CHOL wurde von Soraya Taabache in der Arbeitsgruppe von Dr. Annabelle Bertin an der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) synthetisiert und charakterisiert.

$^1\text{H-NMR}$ (400,1 MHz, DMSO): δ [ppm] = 7,24 (s, 1H); 5,37 – 5,30 (m, 1H); 4,64 – 4,40 (m, 1H); 2,43 (t, $J = 6,62$, 2 H); 2,34 (t, $J = 6,62$, 2H); 2,26 – 2,25 (m, 2H); 2,12 (t, $J = 7,88$, 6H); 1,98 – 1,75 (m, 11H); 1,57 – 0,81 (m, 33H); 0,65 (s, 3H). $^{13}\text{C-NMR}$ (400,1 MHz, DMSO): δ [ppm] = 174,4; 171,7; 170,4; 139,5; 122,0; 73,2; 56,3; 56,1; 55,6; 49,5; 41,9; 37,6; 36,5; 36,1; 35,7; 35,2; 31,4; 30,4; 29,3; 29,1; 28,0; 27,8; 27,3; 23,9; 23,2; 22,7; 22,4; 20,1; 19,0; 18,6; 11,7. ESI-TOF-MS ($\text{C}_{41}\text{H}_{65}\text{NO}_9(\text{M}+\text{H}^+)$): berechnet 716,47; gefunden 716,49. IR (ATR) $\nu = 528, 590, 646, 679, 914, 1313, 1508 \text{ cm}^{-1}$. Elementaranalyse ($\text{C}_{41}\text{H}_{65}\text{NO}_9$): berechnet (gefunden) C 68,78 % (68,17 %); H 9,15 % (8,84 %); N 1,96 % (2,21 %). IR (ATR) $\nu = 528, 590, 646, 679, 914, 1313, 1508 \text{ cm}^{-1}$.

8.4 Charakterisierung des Phasenverhaltens der beiden Amphiphile

Die π -A Isothermen wurden an Trog **A** aufgenommen. Der Langmuir-Trog wurde zunächst mit der entsprechenden Subphase befüllt (ca. 290 mL), anschließend wurde das Amphiphil (1 mg/mL), welches zuvor in einer Chloroform:Methanol Lösung (90:10 v/v) gelöst wurde, mittels einer Hamiltonspritze gespreitet. Beim A-CHOL wurden jeweils 70 beziehungsweise 75 μL und beim CHOL-HEM jeweils 60 μL gespreitet. Nach 10 min war das Lösungsmittel vollständig verdampft und es konnte mit den Aufnahmen der Isothermen begonnen werden.

Als Subphase diente für die Aufnahme der Isothermen bei verschiedenen Temperaturen (10, 15, 16, 17, 18, 19, 20 und 30 °C) MilliQ® Wasser. Bei verschiedenen pH-Werten wurde dieses mittels NaOH (pH-Wert 6, 7, 8, 9 und 10) und HCl (pH-Wert 5) auf den gewünschten pH-Wert eingestellt. Bei der Untersuchung des Phasenverhaltens bei verschiedenen Calciumnitratkonzentrationen (2, 20 und 200 mM), wurden für die 2 mM Lösung 0,4723 g, für 20 mM 4,723 und für 200 mM 47,273 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ in 1 L MilliQ® Wasser gelöst.

Die Kompressions-/Expansionskurven erfolgten bei verschiedenen Temperaturen, pH-Werten und Calciumnitratkonzentrationen. Die Kompressionen erfolgten bis 60 – 62

mN/m, also unterhalb des Filmkollaps von ca. 65 mN/m. Die Kompressions- wie auch die Expansionsgeschwindigkeit betrug $4,2 \text{ \AA}^2/\text{min}$ (Tabelle 7).

Die genaue Lage des Knickpunktes im Fall des CHOL-HEM konnte durch das Anlegen zweier Geraden (im ersten und zweiten Anstieg der Isothermen) bestimmt werden. Der Schnittpunkt der beiden Geraden gibt den Druckwert der Phasenumwandlung an. Für diesen Druckwert wurde der entsprechende Flächenwert der Isothermen ermittelt.

8.5 Mineralisation von Calciumphosphat an der Grenzfläche

Für die Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche wurden die Tröge **B** und **C** verwendet. Trog **B** ermöglichte durch die Dippervertiefung das konstante Rühren der Subphase während der Mineralisation. Als Subphase diente Calciumnitrattetrahydrat $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$ und als Phosphatkomponente wurde Diammoniumhydrogenphosphat $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ eingesetzt.

Zunächst wurde der Trog mit der entsprechenden Subphase gefüllt (125 mL bei Trog **B** und 95 mL bei Trog **C**) und diese auf $20 \text{ }^\circ\text{C}$ temperiert. Beide Amphiphile (1 mg/mL) wurden in einer Chloroform:Methanol Lösung ($90:10 \text{ v/v}$) gelöst und mittels einer Hamiltonspritze gespreitet. Beim CHOL-HEM betrug das Spreitvolumen für beide Tröge $25 \text{ }\mu\text{L}$, wohingegen beim A-CHOL $25 \text{ }\mu\text{L}$ für die Experimente auf Trog **B** und $30 \text{ }\mu\text{L}$ für Trog **C** gespreitet wurden. Nach 10 min wurde die Amphiphil-Monolage auf den gewünschten Oberflächendruck komprimiert. Für das CHOL-HEM betrug dieser 30 mN/m und für das A-CHOL 40 mN/m . Nachdem der Mineralisationsdruck erreicht wurde, konnte mit Hilfe einer Spritze die entsprechende Menge an $3 \text{ M } (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ($39,615 \text{ g}$ auf $0,1 \text{ L}$) unter die Barrieren gespritzt. Die Mineralisationen erfolgten bei einer Gesamtkonzentration von 2 und 20 mM. Für die Mineralisationen bei einer Calciumkonzentration von 2 mM betrug das Volumen der $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung diese $0,08 \text{ mL}$ für Trog **B** und $0,06 \text{ mL}$ für Trog **C** und bei 20 mM $0,83 \text{ mL}$ für Trog **B** und $0,63 \text{ mL}$ für Trog **C**.

Die Mineralisation bei einer Calciumkonzentration von 200 mM war, anders als bei der Charakterisierung des Phasenverhaltens der einzelnen Amphiphile, nicht umsetzbar. Für diese Konzentration wären $8,33 \text{ mL}$ (Trog **B**) beziehungsweise $6,33 \text{ mL}$ (Trog **C**) einer 3 M Phosphatlösung notwendig, um das selbe Ca/P Verhältnis wie in den anderen Experimenten zu erreichen. Die Zugabe eines solchen Volumens unter die Monolage (Subphasenvolumen:

125 mL, Oberfläche 170,5 cm²) würde zum Überlaufen des Troges führen und das Mineralisationsexperiment stören. Aufgrund der Löslichkeit des Diammoniumhydrogenphosphates (690 g/L bei 20 °C) kann maximal eine 5,2 M Lösung hergestellt werden. Doch auch mit dieser Lösung wären 4,81 mL einer 5,2 M Diammoniumhydrogenphosphatlösung notwendig, um die gewünschte Konzentration zu erzielen. Auch eine solche Volumenzugabe würde zum Überlaufen des Troges führen.

Die Mineralisationszeiten für Trog **B** betragen 3, 4 und 5 h. Die IRRAS-Messungen am Trog **C** wurden über einen Zeitraum von 5 h durchgeführt, wobei für das A-CHOL TEM-Proben nach 1, 3 und 5 h genommen wurden. Nach der Reaktionszeit wurden die Filme sowohl auf TEM-Grids als auch auf Siliciumwafer übertragen. Die mineralisierten Filme wurden auf reine oder SiO_x Siliciumwafer mittels Langmuir-Blodgett (AFM Messungen A-CHOL) und Langmuir-Schäfer (AFM Messungen CHOL-HEM und XPS Messungen A-CHOL und CHOL-HEM) Technik übertragen. Die Proben für TEM Messungen wurden mittels einer Pinzette direkt von der mineralisierten Grenzfläche genommen. Die auf dem Grid verbleibende Flüssigkeit wurde mit einem fuselfreien Tuch entfernt und das Grid an der Luft getrocknet. Als TEM-Grids wurden Kohlenstoff-beschichtete Kupfergrids der Firma Plano verwendet.

Die Siliciumwafer wurden zuvor hydrophobiert. Dazu wurden die Wafer zunächst mit Chloroform, Methanol und MilliQ® Wasser gespült und mit Stickstoff getrocknet. Anschließend wurde die Wafer mit Piranhasäure (Wasserstoffperoxid:Schwefelsäure, 1:1) gereinigt, mit MilliQ® Wasser gespült und mit Stickstoff getrocknet. Dann wurde je ein Wafer in ein 15 mL Zentrifugenröhrchen gegeben und dieses mit 5 mL trockenem Benzol (zuvor über Natrium getrocknet und mehrmals refluxiert) gefüllt. Daraufhin wurden 0,1 mL trockenes Chlortrimethylsilan dazugegeben und die Röhrchen gut durchgeschüttelt. Nach 5 min wurden die Wafer erneut mit Chloroform, Ethanol und MilliQ® Wasser gespült und mit Stickstoff getrocknet.

8.6 Mineralisation von Calciumphosphat in Bulklösung

Die Konzentration für die CP Mineralisation an der Wasser/Luft-Grenzfläche betrug 2 und 20 mM. Für die Mineralisationen in Bulklösung wurde eine Konzentration von 20 mM verwendet, da bei einer Konzentration von 2 mM nicht genug Mineral für die nachfolgende Analytik anfiel. Als Mineralisationsadditive dienten Nitrioloessigsäuretrinatriummonohydrat

(NTA, $M=275,10$ g/mol) und Ethylendiaminotetraessigsäuredinatriumsalzdihydrat (EDTA, $M=372,24$ g/mol).

8.6.1 Analytik NTA und EDTA

Das NTA (Nitriloessigsäuretrinatriumsalzmonohydrat) wurde von der Firma Sigma Aldrich und das EDTA (Ethylendiaminotetraeesigsäuredinatriumsalzdihydrat) von der Firma Carl Roth gekauft und mittels NMR, ATR-IR und Elementaranalyse untersucht.

NTA: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ [ppm] = 3,11 (s, 6H). $^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ [ppm] = 181,1; 59,11. IR (ATR) ν = 505, 521, 532, 582, 633, 648, 729, 754, 806, 843, 920, 947, 955, 962, 984, 995, 1003, 1062, 1099, 1132, 1140, 1242, 1257, 1284, 1327, 1340, 1361, 1404, 1450, 1473, 1506, 1572, 1674, 2873, 2906, 3163, 3330 cm^{-1} . Elementaranalyse ($\text{C}_6\text{H}_8\text{NO}_7\text{Na}_3$): berechnet (gefunden) C 26,20 % (26,25 %); H 2,93 % (2,85 %); N 5,09 % (5,09 %).

EDTA: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ [ppm] = 3,88 (s, 8H); 3,66 (s, 4 h). $^{13}\text{C-NMR}$ (300 MHz, D_2O): δ [ppm] = 170,7; 58,0; 51,6. IR (ATR) ν = 444, 494, 550, 625, 704, 816, 899, 920, 939, 957, 1020, 1053, 1134, 1196, 1225, 1267, 1292, 1315, 1356, 1392, 1475, 1620, 1672, 2729, 2779, 3028, 3381, 3525 cm^{-1} . Elementaranalyse ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_{10}$): berechnet (gefunden) C 32,27 % (32,28 %); H 4,87 % (5,01 %); N 7,53 % (7,55 %).

8.6.2 Mineralisation von Calciumphosphat

Zunächst wurden jeweils 50 mL einer 1 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - und $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Stammlösung hergestellt. Dazu wurden 11,808 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ und 6,602 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ in einem 50 mL Maßkolben eingewogen und auf 50 mL mit MilliQ®-Wasser aufgefüllt.

Anschließend wurden 2 mL der jeweiligen 1 M Lösungen in einen 50 mL Maßkolben gegeben, mit etwa 40 mL MilliQ®-Wasser versetzt, auf den gewünschten pH-Wert eingestellt und schließlich bis zur Eichmarke mit MilliQ®-Wasser aufgefüllt. Die Konzentration betrug 40 mM. Diese Prozedur wurde für die pH-Werte 5, 6, 7, 8 und 9 sowohl für die $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ - als auch für die $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösungen angewendet. Dabei enthielten die Maßkolben mit den $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lösungen zusätzlich die gewünschte Konzentration des jeweiligen Additivs. Dazu wurde das Additiv zunächst in einen Maßkolben eingewogen und in MilliQ®-Wasser vollständig gelöst, bevor die Zugabe der $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung und die Einstellung des pH-Wertes

erfolgten. Zum Einstellen des pH-Wertes wurden HCl und NaOH verwendet. Als Reaktionsgefäße dienten 100 mL Probenbecher aus Polypropylen mit Schraubverschluss. In Tabelle 8 sind die einzelnen Konzentrationen, Volumina und Massen für die Mineralisationen zusammengefasst. Während der Reaktionszeit von 4 h wurde im Reaktionsgefäß mit konstanter Geschwindigkeit gerührt. Alle Proben wurden nach 4 h in 50 mL Zentrifugenröhrchen zentrifugiert und der Rückstand 3 x mit 40 mL MilliQ®-Wasser gewaschen. Schließlich wurden die Proben in einem Trockenofen bei 37 °C getrocknet.

Tabelle 8: Überblick über die Konzentrationen, Massen und Volumina der verwendeten Chemikalien.

Reaktions- gefäß	Ca(NO ₃) ₂		NTA oder (EDTA)		(NH ₄) ₂ HPO ₄		Lösung nach dem Mischen	
	c [mM]	V [mL]	c [mM]	m [g]	c [mM]	V [mL]	c(Ca, Pi) [mM]	V [mL]
1	40	50	0	0	-	-	20	100
A	-	-	-	(0)	40	50		
2	40	50	5	0,138	-	-	20	100
B	-	-	-	(0,186)	40	50		
3	40	50	10	0,275	-	-	20	100
C	-	-	-	(0,372)	40	50		
4	40	50	15	0,413	-	-	20	100
D	-	-	-	(0,558)	40	50		

Die Proben wurden für die anschließenden ATR-IR und XRD Messungen gemörsert. Für die SEM Aufnahmen wurden die Proben nicht gemörsert.

Für die Mineralisation von CP bei den pH-Werten 5, 6, 7, 8 und 9 wurden weiterhin Leitfähigkeits- und pH-Messungen durchgeführt. Für die Messungen wurden 50 mL Probenbecher aus Polypropylen mit Schraubverschluss verwendet. Der Verlauf der Mineralisation wurde analog zu den vorherigen Messungen durchgeführt, nur das Probenvolumen betrug diesmal 30 mL anstatt 100 mL. Tabelle 9 gibt einen Überblick über die

verwendeten Konzentrationen, Massen und Volumina für die Leitfähigkeits- und pH-Messungen. Bevor mit der Mineralisation begonnen wurde, erfolgte die Aufnahme des pH-Wertes und der Leitfähigkeit der 40 mM Calciumnitrat-Lösung mit der entsprechenden Menge an Additiv über 5 min. Bei pH 6 wurde der pH-Wert und die Leitfähigkeit über 140 min für NTA und 60 min für EDTA, bei pH 7 und 8 über 30 min und bei pH 9 über 170 min für NTA und 70 min für EDTA aufgenommen.

Tabelle 9: Überblick über die verwendeten Konzentrationen, Massen und Volumina für die Leitfähigkeits- und pH-Messungen.

Reaktions- gefäß	Ca(NO ₃) ₂		NTA oder (EDTA)		(NH ₄) ₂ HPO ₄		Lösung nach dem Mischen	
	c [mM]	V [mL]	c [mM]	m [g]	c [mM]	V [mL]	c(Ca, P _i) [mM]	V [mL]
1	40	15	0	0 (0)	-	-	20	30
A	-	-	-	-	40	15		
2	40	15	5	0,041 (0,056)	-	-	20	30
B	-	-	-	-	40	15		
3	40	15	10	0,083 (0,112)	-	-	20	30
C	-	-	-	-	40	15		
4	40	15	15	0,124 (0,168)	-	-	20	30
D	-	-	-	-	40	15		

8.7 Verwendete Analysemethoden

Elektronenmikroskopie: A-CHOL Trog B: Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) wurde an einem EM 912 Omega (Carl Zeiss, Oberkochen) bei 120 kV mit einem LaB₆ Filament durchgeführt. Die Rasterelektronenmikroskopie wurde an einem LEO 1550 (Leo GmbH, Oberkochen) bei 3 kV mit einer Schottky-Feldemissionskathode durchgeführt.

A-CHOL Trog C und CHOL-HEM: TEM Charakterisierung der Mineralfilme wurde an einem aberrationskorrigierten FEI Titan 80-300 (FEI Company) bei 300 kV, ausgestattet mit einer US1000 CCD Kamera (Gatan Inc.), einem Tridium 863 Energiefilter (Gatan Inc.) und einem s-UTW EDXS Detektor (EDAX) durchgeführt. Morphologische Untersuchungen wurden mittels Hellfeld-Methode und Rastertransmissionselektronenmikroskopie (STEM) erfasst. Für die Elektronenbeugung (engl. selected area electron diffraction, SAED) und die Hochauflösungstransmissionselektronenmikroskopie (HRTEM) wurden niedrig dosierte Elektronenstrahlen verwendet. Die Dosis für die HRTEM war je nach verwendeter Vergrößerung auf 10^5 bis 4×10^6 e/nm² limitiert. NTA, EDTA: Die Rasterelektronenmikroskop Aufnahmen für die Mineralisation von CP in Bulklösung mit EDTA und NTA als Additive erfolgten an einem JEOL JSM-6510 Mikroskop. Die mineralisierten Hybridmaterialien wurden zuvor im Trockenschrank bei 37 °C getrocknet und ungemörsert auf die Probenträger aufgetragen. Zudem wurden die Proben mit Pd/Au besputtert. Aufgrund der starken Aufladung der Mineralien erfolgte die Aufnahme der Bilder bei einer Beschleunigungsspannung zwischen 1 und 2 kV.

Elementaranalyse: Die Elementaranalysen wurden mit einem Vario EL III von Elementar durchgeführt.

Rasterkraftmikroskopie (AFM): Die AFM Bilder wurden im tapping mode an einer MultiMode AFM (Veeco Metrology Group) aufgenommen. Als Cantilever wurden aluminiumbeschichtete NanoWorld Silicon-SPM-Sensoren mit einer Federkonstante von 15 N/m und einer Resonanzfrequenz von 130 kHz verwendet. Die Proben für die AFM Messungen wurden auf hydrophobierte Siliciumwafer übertragen.

Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS): Die IRRAS Daten wurden an einem IFS 66 FT-IR Spektrometer (Bruker Optics, Ettlingen, Deutschland) aufgenommen. Diese ist ausgestattet mit einem Quecksilber Cadmium Telluride (MCT) Detektor, der mit einer externen Wasser/Luft Reflexionseinheit (XA-511, Bruker Optics, Ettlingen, Deutschland) verbunden ist. Der MCT Detektor wird mit flüssigem Stickstoff gekühlt. Der Trog (R&K, Potsdam, Deutschland) setzt sich aus zwei Teilen zusammen, dem Probenrog und dem Referenzrog, die mittels eines Thermostaten temperiert werden können. Der Probenrog enthält das zu untersuchende Monolagensystem und der Referenzrog ist mit der jeweiligen Subphase gefüllt. Der IR-Strahl wird durch verschiedene Spiegel auf der Wasseroberfläche

fokussiert, wobei der Einfallswinkel des IR-Strahls mittels zwei beweglichen Armen in einem Winkel zwischen 30 und 72° variiert werden kann.

Zur Polarisation des einfallenden IR-Strahl wird ein KRS-5 Wire Grid Polarisationsfilter verwendet. Das ganze System befindet sich in einer hermetisch abgedichteten Box um die Verdampfung der Subphase möglichst gering zu halten. Während der Messung wird zwischen Proben- und Referenztrög hin- und hergefahren, sodass der IR-Strahl entweder auf die Probe oder die Referenz gerichtet ist. Um das Signal, welches vom Wasser verursacht wird, zu eliminieren, dient das Referenzspektrum vom Referenztrög als Background. Das Reflexions-Absorptions-Spektrum der Probe wird nach $-\log(R/R_0)$ berechnet.^[87,88,130,205–207] Die Auflösung und Scangeschwindigkeit in allen Experimenten betrug 8 cm^{-1} und 20 kHz. Für s-polarisiertes Licht wurden 200 Scans und für p-polarisiertes Licht 400 Scans durchgeführt. Anhand der zwei verschiedenen Polarisierungen können Informationen über die Orientierungen der Moleküle gewonnen werden. Ändert sich die durchschnittliche Orientierung des Übergangsdipolmoments des Moleküls, ist dieses durch das Verhältnis zwischen p-polarisiertem und s-polarisiertem Licht (dichromatisches Verhältnis) für die jeweilige Schwingungsbande sichtbar. Die Intensität und Form einer Reflexions-Absorptionsbande hängt von mehreren Variablen ab. Dazu zählen: Absorptionskoeffizient, Halbwertsbreite, Orientierung des Übergangsdipolmoments innerhalb des Moleküls, molekularer Neigungswinkel, Polarisation und Winkel des Einfallstrahls und die Schichtdicke und deren Brechungsindex. Die Schichtdicke kann anhand der Bande der OH-Streckschwingung ($3800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$) abgeschätzt werden.

Infrarot-Spektroskopie (IR): Die ATR-FTIR Spektren wurden an einem Nicolet Nexus 6700 und 8700 Spektrometer der Firma Thermo Fisher Scientific mit einem Thermo Scientific Smart Orbit (Diamant-Kristall) bei Wellenzahlen von $400\text{ bis }4000\text{ cm}^{-1}$ mit einer Auflösung von 4 cm^{-1} aufgenommen. Weiterhin wurde eine ATR-Korrektur der Spektren mittels Omnic 6.2 und Omnic 7.3 durchgeführt.

Kernspinresonanzspektroskopie (NMR): A-CHOL: Die ^1H -NMR Spektren wurden auf einem Bruker DPX 400 und die ^{13}C -NMR Spektren auf einem Bruker ECP 500 aufgenommen. CHOL-HEM, EDTA, NTA: Die ^1H - und ^{13}C -NMR Spektroskopie wurde auf einem Bruker Avance 300 Spektrometer aufgenommen.

Leitfähigkeitsmessungen: Für die Mineralisationen in Bulklösung wurde die Leitfähigkeit mit einer PP1042 Sonde mit dem Messgerät CDM 83 von Radiometer, Kopenhagen gemessen.

Massenspektrometrie: Die ESI Messungen erfolgten an einem Q-TOF Ultima ESI-TOF Massenspektrometer (Micromass) mit einer Kapillarspannung von 2-3,5 kV und einer Kegelspannung von 35 V, bei einer Quellen-Temperatur von 120 °C und einer Desolvationstemperatur von 150 – 180 °C. Das Massenspektrometer wurde im positiven Ionenmodus betrieben. Der Desolvationsgasfluss betrug 200 L/h. Die Kalibrierung des Systems wurde mittels Phosphorsäure und PEO ($M_n = 970$ g/mol) Polymerstandard (PSS GmbH, Mainz, Germany). Die Probenlösung (0,1 mg/mL) gelöst in Methanol und 0,1 %iger Ameisensäure wurde durch eine Infusionspumpe mit 5 μ L/min eingebracht.

pH Messungen: Der pH-Wert der Subphase während der Mineralisation von CP an der Wasser/Luft-Grenzfläche wurde mit einem PCE-228 pH-Meter und einer Sartorius PY-P11 Elektrode aufgenommen. Für die pH-Messungen in Bulklösung wurde ein MultiLab 540 Ph-Meter und eine SenTix 41 pH-Elektrode der Firma WTW verwendet.

Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS): A-CHOL: Für die XPS Messungen wurden hydrophobierte SiO_x -Wafer verwendet. Um eine dickere Mineralschicht zu erhalten, erfolgte der Probenübertrag via Langmuir-Schäfer Technik. Die Wafer, die durch Langmuir-Blodgett Übertrag erhalten wurden, zeigten kein auswertbares Spektrum. Die Messungen wurden an einem Axis Ultra DLD Elektronenspektrometer der Firma Kratos Analytical, UK durchgeführt. Als Röntgenquelle wurde monochromatische $\text{Al-K}\alpha$ -Strahlung mit einer Photoelektronenenergie von 80 eV für Übersichtsspektren und 20 eV für Kernebenenspektren und Valenzbandspektren verwendet. Der Elektronenemissionswinkel betrug 0° und der Winkel zwischen Quelle und Detektor 60°. Die Kalibrierung der Bindungsenergieskala erfolgte gemäß der „Kratos Analytical“ Prozedur unter Nutzung der ISO 15472 Bindungsenergie-daten.^[208] Zur Aufnahme der Spektren wurde das Instrument auf den „hybrid lens mode“ und den „slot mode“ gestellt um eine Fläche von ungefähr 300 x 700 μm^2 zu analysieren. Bei nicht-leitenden Proben wurde ein Ladungsneutralisator eingesetzt. Die Bindungsenergieskala wurde auf die Elektronenbindungsenergie von 285,0 eV für das C 1s Level des aliphatischen Kohlenwasserstoffs kalibriert.^[209] CHOL-HEM: Die XPS Messungen wurden an einem K-Alpha Instrument (Thermo Fisher Scientific, East Grinstead, UK) durchgeführt. Zur Anregung diente eine mikrofokussierte, monochromatische

AlK α -Röntgenstrahlung (Anregungsfleckdurchmesser von 30-400 μm). Um einen lokalisierten Ladungsaufbau zu vermeiden, erfolgte die Neutralisation der Oberflächenladungen durch ein K-Alpha Ladungskompensationssystem unter Verwendung niedrigenergetischer Argonionen und Elektronen. Datenerfassung und -verarbeitung erfolgten mittels der Thermo Advantage Software (zur näheren Beschreibung siehe Quelle).^[210] Zur Anpassung der Peaks wurden ein oder mehrere Voigt-Funktionen verwendet. Zur Quantifizierung wurden die Transmissionsfunktion des Analysators, die mittleren freien Weglängen der Photoelektronen^[211] sowie die Wirkungsquerschnitte für die Photoionisation nach Scofield berücksichtigt.^[212] Alle Spektren wurden auf die C 1s Photoelektronenlinie (285,0 eV) von Kontaminationskohlenstoff beziehungsweise auf die Au 4f $_{7/2}$ (84,0 eV) Gold-Photoelektronenlinie referenziert. Zur Kalibrierung der Bindungsenergieskala dienten die Bindungsenergien von metallischem Kupfer, Silber und Gold. Bei einer Durchlassenergie von 50 eV ist die Energieauflösung <1,0 eV Halbwertsbreite der Ag 3d $_{5/2}$ Linie. Die experimentelle Messunsicherheit beträgt $\pm 0,2$ eV.

Röntgenpulverdiffraktometrie (XRD): Die Röntgenpulverdiffraktogramme wurden an einem PANalytical Empyrean Diffraktometer zwischen 4 und 70° 2 Θ und einer Schrittweite von 0,0131° durchgeführt (Sekundärmonochromator, $\lambda = 1,5408$ Å, CuK α , automatischen Divergenzblenden und rotierenden Proben Tellern). Die Probenpräparation erfolgte auf Silicium-Einkristallscheiben.

9. Anhang

Tabelle 10: Bindungsenergien und Atomkonzentrationen zweier Proben mineralisiert bei 2 und 20 mM über jeweils 5 h. Dabei wurden zwei verschiedene Positionen auf dem Wafer vermessen.

		Si 2p _{3/2}	Si 2p _{3/2}	P 2p _{3/2}	C 1s	C 1s	C 1s	C 1s	C 1s	Ca 2p _{3/2}	O 1s	O 1s	O 1s
Probe		Si	SiO ₂	PO ₄ ³⁻	C-H	C=O, C-N	C=O	COO		SiO _x , C=O, PO ₄ ³⁻	O=C=O	O=C-O	?
2 mM 5h # 1	Bindungsenergie [eV] Atom% [%]	-	-	133,1 (12,99)	285,0 (7,92)	286,7 (2,12)	-	288,8 (1,92)		347,4 (17,25)	531,2 (50,53)	533,2 (7,26)	-
2 mM 5h # 2	Bindungsenergie [eV] Atom% [%]	99,5 (2,05)	103,2 (0,63)	133,0 (9,53)	285,0 (27,52)	286,8 (3,01)	-	287,7 (2,19)		347,3 (12,55)	531,2 (36,22)	533,1 (6,30)	-
20 mM 5h # 1	Bindungsenergie [eV] Atom% [%]	99,1 (23,76)	103,0 (7,19)	-	285,0 (40,35)	286,5 (3,46)	287,7 (1,06)	289,2 (1,90)		347,9 (0,26)	531,3 (0,97)	532,7 (19,69)	534,4 (1,37)
20 mM 5h # 2	Bindungsenergie [eV] Atom% [%]	99,1 (24,11)	103,0 (7,12)	-	285,0 (38,71)	286,4 (4,13)	287,5 (1,40)	289,2 (2,16)		348,3 (0,12)	531,2 (0,68)	532,7 (20,02)	534,4 (1,55)

Tabelle 11: Zuordnung der Wellenzahlen für die mineralisierten DCPD Proben.

pH	6						7						8	DCPD
	Additive	NTA			EDTA			NTA			EDTA			
c [mM]	0	5	10	15	5	15	0	5	5	10	15	0	0	Zuordnung ^{1,7,5-1,78,182,188,213,214)}
	3537	3535	3535	3535	3537	3537	3539	3533	3541	3537	3539	3535	3535	Streckschwingung von H ₂ O [ν_4 (O-H)]
	3481	3483	3483	3483	3479	3481	3479	3479	3483	3481	3483	3483	3483	
	3271	3280	3273	3271	3276	3271	3273	3270	3271	3271	3282	3273	3273	
	3161	3153	3153	3153	3159	3165	3153	3151	3159	3153	3161	3142	3142	
	1649	1645	1649	1649	1643	1645	1645	1645	1645	1645	1649	1649	1649	Biegeschwingung von H ₂ O
	1209	1207	1209	1209	1203	1209	1207	1209	1207	1207	1207	1213	1213	(O-H) Biegeschwingung in HPO ₄ ²⁻
	1136	1140	1140	1140	1134	1136	1136	1136	1134	1134	1136	1136	1136	entartete ν'_6 und ν''_6 Streckschwingung in HPO ₄ ²⁻
	1061	1065	1065	1065	1061	1061	1061	1061	1059	1059	1061	1057	1057	ν_3 (P-O) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻
	987	989	987	987	987	987	987	987	987	987	987	987	987	ν_1 P-O(H) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻
	874	876	874	874	874	874	874	874	874	874	874	874	874	symmetrische P-O(H) Streckschwingung in HPO ₄ ²⁻
	793	796	793	793	791	793	793	791	793	791	793	793	793	Taumelschwingung von H ₂ O
	661	661	661	661	658	661	660	658	654	656	660	656	656	Taumelschwingung von H ₂ O oder ν_4 (O-P-O)
	577	579	579	579	577	577	577	577	577	577	577	575	575	ν_4 (O-P-O) Biegeschwingung
	528	528	528	528	528	528	528	528	525	525	525	528	528	ν_4 (O-P-O) Biegeschwingung

ATR-IR / Wellenzahl [cm⁻¹]

Tabelle 12: Zuordnung der Wellenzahlen für die mineralisierten HAP Proben.

pH	8															9					HAP
	NTA		NTA		EDTA		3500-3000			3500-3000			NTA		EDTA						
Additiv	10	5	10	15	5	10	15	0	5	10	15	5	10	15	5	10	15	Zuordnung [123,124,175,186-187]			
c [mM]	10	5	10	15	5	10	15	0	5	10	15	5	10	15	5	10	15	O-H Streckschwingung von H ₂ O und OH-Gruppen des NTA's			
	-	-	-	-	-	-	-	3500-3000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Absorbiertes H ₂ O			
	1591	1591	1591	1589	-	-	-	1641	-	1589	1587	-	-	-	-	-	-	v ₃ Streckschwingung von CO ₃ ²⁻			
	-	-	-	-	1639	1634	1639	1458	-	1458	1458	-	-	-	-	-	-	v ₃ Streckschwingung von CO ₃ ²⁻			
	-	-	-	-	-	-	-	1458	1458	1458	1458	-	-	-	-	-	-	v ₃ Streckschwingung von CO ₃ ²⁻			
	1421	1421	1416	1423	-	-	-	-	1421	1421	1416	-	-	-	-	-	-	v ₃ Streckschwingung von CO ₃ ²⁻			
	1095	1095	1088	1092	1093	1093	1093	1090	1090	1090	1090	1095	1093	1093	1093	1093	1093	dreifach entartete antisymmetrische v ₃ (O-P-O) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻			
	1030	1032	1028	1030	1028	1028	1030	1032	1032	1032	1032	1030	1032	1030	1032	1030	1030	dreifach entartete antisymmetrische v ₃ (O-P-O) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻			
	962	962	962	962	962	962	962	962	962	962	962	964	962	962	962	962	962	symmetrische v ₁ (O-P-O) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻			
	874	874	872	874	868	866	868	862	876	876	876	866	868	866	868	866	866	v ₂ Biegeschwingung von CO ₃ ²⁻			
	602	602	600	602	602	602	602	602	602	602	602	602	602	602	602	602	602	dreifach entartete v ₄ (O-P-O) Biegeschwingung in PO ₄ ³⁻			
	561	563	561	561	561	561	563	563	563	563	563	561	563	563	561	563	563	dreifach entartete v ₄ (O-P-O) Biegeschwingung in PO ₄ ³⁻			
ATR-IR / Wellenzahl [cm ⁻¹]																					

Tabelle 13: Zuordnung der Wellenzahlen für die mineralisierten Proben bestehend aus DCPD und HAP sowie DCPD und EDTA.

pH	7	DCPD & HAP
Additiv	NTA	Zuordnung ^{123,124,175-178,182,183,185,187,213-215)}
c [mM]	15	
	3541	Streckschwingung von H ₂ O [ν_2 (O-H)]
	3479	
	3282	
	3166	
	1649	(O-H) Streckschwingung von H ₂ O
	1423	Biegeschwingung von H ₂ O
	1217	ν_3 Streckschwingung von CO ₃ ²⁻
	1140	(O-H) Biegeschwingung in HPO ₄ ²⁻
	1095	entartete ν'_6 und ν''_6 Streckschwingung in HPO ₄ ²⁻
	1032	dreifach entartete antisymmetrische ν_3 (O-P-O) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻
	987	dreifach entartete antisymmetrische ν_3 (O-P-O) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻
	962	ν_1 P-O(H) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻
	874	symmetrische ν_1 (O-P-O) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻
	794	symmetrische P-O(H) Streckschwingung in HPO ₄ ²⁻ oder ν_2 Biegeschwingung von CO ₃ ²⁻
	602	Taumelschwingung von H ₂ O
	563	dreifach entartete ν_4 (O-P-O) Biegeschwingung in PO ₄ ³⁻

pH	6	DCPD + EDTA
Additiv	EDTA	Zuordnung ^{123,124,175-178,182,183,185,187,213-215)}
c [mM]	10	
	3537	Streckschwingung von H ₂ O [ν_2 (O-H)]
	3481	
	3292	
	3153	
	2951	(O-H) Streckschwingung von H ₂ O
	2916	EDTA
	2871	EDTA
	2839	EDTA
	1649	Biegeschwingung von H ₂ O
	1452	EDTA
	1377	EDTA
	1213	(O-H) Biegeschwingung in HPO ₄ ²⁻
	1130	entartete ν'_6 und ν''_6 Streckschwingung in HPO ₄ ²⁻
	1061	ν_3 (P-O) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻
	985	ν_1 P-O(H) Streckschwingung in PO ₄ ³⁻
	874	symmetrische P-O(H) Streckschwingung in HPO ₄ ²⁻
	796	Taumelschwingung von H ₂ O
	658	Taumelschwingung von H ₂ O oder ν_4 (O-P-O)
	577	ν_4 (O-P-O) Biegeschwingung

10. Literaturverzeichnis

- [1] M. Epple, *Biomaterialien Und Biomineralisation*, Teubner, Wiesbaden, **2003**.
- [2] E. Bäuerlein, P. Behrens, in *Biomim. Bioinspired Chem.*, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [3] E. Bäuerlein, P. Behrens, in *Handb. Biominer.*, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [4] E. Bäuerlein, P. Behrens, M. Epple, *Handbook of Biomineralization: Biomimetic and Bioinspired Chemistry*, Wiley, **2007**.
- [5] E. Bäuerlein, P. Behrens, M. Epple, *Handbook of Biomineralization: . Biological Aspects and Structure Formation*, Wiley-VCH, **2007**.
- [6] K. Naka, C. K. Carney, H. Cölfen, *Biomineralization II: Mineralization Using Synthetic Polymers and Templates*, Springer, **2007**.
- [7] H. Cölfen, S. Mann, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, *42*, 2350–2365.
- [8] S. Schweizer, A. Taubert, *Macromol. Biosci.* **2007**, *7*, 1085–1099.
- [9] F. Nudelman, N. a J. M. Sommerdijk, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2012**, *51*, 6582–6596.
- [10] E. DiMasi, L. B. Gower, *Biomineralization Sourcebook: Characterization of Biominerals and Biomimetic Materials*, Taylor & Francis, **2014**.
- [11] DESTATIS, “Lebenserwartung Deutschland,” can be found under <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Bevoelkerung/Sterbefaelle/Sterbefaelle.html>, **n.d.**
- [12] S. V Dorozhkin, M. Epple, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 3130–3146.
- [13] D. J. Ahn, a Berman, D. Charych, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 12455–12461.
- [14] J. Aizenberg, J. Hanson, T. F. Koetzle, S. Weiner, L. Addadi, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 881–886.
- [15] D. Gebauer, A. Völkel, H. Cölfen, *Science* **2008**, *322*, 1819–1822.
- [16] A. W. Xu, W. F. Dong, M. Antonietti, H. Cölfen, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 1307–1313.
- [17] F. C. Meldrum, H. Cölfen, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 4332–4432.
- [18] T. Y. J. Han, J. Aizenberg, *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 1064–1068.
- [19] R. Q. Song, H. Cölfen, A. W. Xu, J. Hartmann, M. Antonietti, *ACS Nano* **2009**, *3*, 1966–1978.
- [20] Y. Politi, D. R. Batchelor, P. Zaslansky, B. F. Chmelka, J. C. Weaver, I. Sagi, S. Weiner, L. Addadi, *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 161–166.
- [21] E. Dimasi, S. Y. Kwak, F. F. Amos, M. J. Olszta, D. Lush, L. B. Gower, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *97*, 1–4.
- [22] K. Bleek, A. Taubert, *Acta Biomater.* **2013**, *9*, 6283–6321.
- [23] T. Mai, K. Bleek, A. Taubert, in *Biomater. Surf. Sci.*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2013**, pp. 311–336.
- [24] J. A. Planell, M. P. Ginebra, E. Fernández, E. a De Maeyer, R. M. Verbeeck, M. G. Boltong, J. Ginebra, F. C. Driessens, J. A. Planell, *J. Dent. Res.* **1997**, *76*, 905–912.
- [25] E. Bertoni, A. Bigi, G. Cojazzi, M. Gandolfi, S. Panzavolta, N. Roveri, *J. Inorg. Biochem.* **1998**, *72*, 29–35.
- [26] M. Antonietti, M. Breulmann, C. G. Göltner, H. Cölfen, K. K. W. Wong, D. Walsh, S. Mann, *Chem. - A Eur. J.* **1998**, *4*, 2493–2500.
- [27] J. Bradt, M. Mertig, A. Teresiak, W. Pompe, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 2694–2701.
- [28] A. Peytcheva, H. Cölfen, H. Schnablegger, M. Antonietti, *Colloid Polym. Sci.* **2002**, *280*, 218–227.
- [29] Y. Li, D. Li, Z. Xu, *J. Mater. Sci.* **2009**, *44*, 1258–1263.
- [30] W. J. E. M. Habraken, J. Tao, L. J. Brylka, H. Friedrich, L. Bertinetti, A. S. Schenk, A. Verch, V. Dmitrovic, P. H. H. Bomans, P. M. Frederik, et al., *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 1507.
- [31] F. Nudelman, E. Shimoni, E. Klein, M. Rousseau, X. Bourrat, E. Lopez, L. Addadi, S. Weiner, *J. Struct. Biol.* **2008**, *162*, 290–300.
- [32] L. Addadi, D. Joester, F. Nudelman, S. Weiner, *Chem. – A Eur. J.* **2006**, *12*, 980–987.
- [33] K. Kita-Tokarczyk, M. Junginger, S. Belegriou, A. Taubert, in *Self Organ. Nanostructures Amphiphilic Block Copolym. II* (Eds.: A.H.E. Müller, O. Borisov), Springer Berlin Heidelberg, **2011**, pp. 151–201.
- [34] E. DiMasi, M. J. Olszta, V. M. Patel, L. B. Gower, *CrystEngComm* **2003**, *5*, 346.
- [35] M. Fricke, D. Volkmer, C. E. Krill, M. Kellermann, A. Hirsch, *Cryst. Growth Des.* **2006**, *6*, 1120–1123.
- [36] B. P. Pichona, S. Cantin, M. M. J. Smulders, M. R. J. Vos, N. Chebotareva, D. C. Popescu, O. Van Asselen, F. Perrot, R. Sijbesma, N. a J. M. Sommerdijk, *Langmuir* **2007**, *23*, 12655–12662.
- [37] D. Volkmer, M. Fricke, T. Huber, N. Sewald, *Chem. Commun.* **2004**, *49*, 1872.
- [38] P. J. J. A. Buijnsters, J. J. J. M. Donners, S. J. Hill, B. R. Heywood, R. J. M. Nolte, B. Zwanenburg, N. A. J. M. Sommerdijk, *Langmuir* **2002**, *17*, 3623–3628.
- [39] S. Cavalli, D. C. Popescu, E. E. Tellers, M. R. J. Vos, B. P. Pichon, M. Overhand, H. Rapaport, N. a J. M. Sommerdijk, A. Kros, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2006**, *45*, 739–744.

- [40] E. DiMasi, V. M. Patel, M. Sivakumar, M. J. Olszta, Y. P. Yang, L. B. Gower, *Langmuir* **2002**, *18*, 8902–8909.
- [41] F. F. Amos, D. M. Sharbaugh, D. R. Talham, L. B. Gower, M. Fricke, D. Volkmer, *Langmuir* **2007**, *23*, 1988–1994.
- [42] B. P. Pichon, P. H. H. Bomans, P. M. Frederik, N. A. J. M. Sommerdijk, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4034–4040.
- [43] O. Casse, O. Colombani, K. Kita-Tokarczyk, A. H. E. Muller, W. Meier, A. Taubert, A. H. E. Müller, *Faraday Discuss.* **2008**, *139*, 179–197.
- [44] M. Junginger, K. Bleek, K. Kita-Tokarczyk, A. Shkilnyy, F. Schacher, H. E. M. Axel, A. Taubert, J. J. Reiche, A. Shkilnyy, F. Schacher, et al., *Nanoscale* **2010**, *2*, 2440–2446.
- [45] M. Junginger, K. Kita-Tokarczyk, T. Schuster, J. Reiche, F. Schacher, A. H. E. Müller, H. Cölfen, A. Taubert, *Macromol. Biosci.* **2010**, *10*, 1084–1092.
- [46] M. Junginger, C. Kübel, F. H. Schacher, A. H. E. Müller, A. Taubert, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 11301.
- [47] A. Dey, P. H. H. Bomans, F. A. Müller, J. Will, P. M. Frederik, G. de With, N. A. J. M. Sommerdijk, G. De With, *Nat. Mater.* **2010**, *9*, 1010–1014.
- [48] L.-J. Zhang, H.-G. Liu, X.-S. Feng, R.-J. Zhang, Y.-D. Mu, J.-C. Hao, D.-J. Qian, Y.-F. Lou, L.-J. Zhang, Y.-D. Mu, et al., *Langmuir* **2004**, *20*, 2243–2249.
- [49] F. Rehfeldt, R. Steitz, S. P. Armes, R. von Klitzing, A. P. Gast, M. Tanaka, R. Von Klitzing, A. P. Gast, M. Tanaka, H. B. Gmbh, et al., *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 9171–9176.
- [50] D. Walsh, E. Boanini, J. Tanaka, S. Mann, *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 1043.
- [51] M. Junginger, K. Kita-Tokarczyk, T. Schuster, J. Reiche, F. Schacher, A. H. E. Müller, H. Cölfen, A. Taubert, *Macromol. Biosci.* **2010**, *10*, 1084–92.
- [52] A. Shkilnyy, A. Friedrich, B. Tiersch, S. Schöne, M. Fechner, J. Koetz, C.-W. Schläpfer, A. Taubert, S. Schone, C.-W. Schlapfer, *Langmuir* **2008**, *24*, 2102–2109.
- [53] A. Shkilnyy, J. Brandt, A. Manton, O. Paris, H. Schlaad, A. Taubert, *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 1572–1578.
- [54] D. Hentrich, M. Junginger, M. Bruns, H. G. Börner, J. Brandt, G. Brezesinski, A. Taubert, *CrystEngComm* **2015**, *17*, 6901–6913.
- [55] C. Aparicio, M.-P. Ginebra, Eds., *Biomaterialization and Biomaterials*, Woodhead Publishing, **2015**.
- [56] GEO.de, “Fotoshow: Die wundersame Welt der Biominerale,” can be found under [http://www.geo.de/GEO/natur/51192.html?](http://www.geo.de/GEO/natur/51192.html?n.d), **n.d.**
- [57] U. Bremen, “Coccolithophores,” can be found under http://www.geo.uni-bremen.de/cocco/index.php?option=com_content&task=view&id=31&Itemid=47, **n.d.**
- [58] S. Mann, *Biomaterialization - Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, Oxford Chemistry Masters, Oxford, **2001**.
- [59] K. Naka, C. K. Carney, H. Cölfen, *Biomaterialization I: Crystallization and Self-Organization Process*, Springer, **2007**.
- [60] H. A. Lowenstam, S. Weiner, *On Biomaterialization*, Oxford University Press, **1989**.
- [61] S. Weiner, P. M. Dove, *Rev. Mineral. Geochemistry* **2003**, *54*, 1–29.
- [62] D. Shi, *Biomaterials and Tissue Engineering*, Springer Berlin Heidelberg, **2004**.
- [63] S. Ramakrishna, M. Ramalingam, T. S. S. Kumar, W. O. Soboyejo, *Biomaterials: A Nano Approach*, CRC Press, **2010**.
- [64] K. Simkiss, K. M. Wilbur, *Biomaterialization: Cell Biology and Mineral Deposition*, Academic Press, **1989**.
- [65] J. Vincent, *Structural Biomaterials*, Princeton University Press, Princeton, New Jersey, **1990**.
- [66] K. Reichenmiller, C. Klein, in *Handb. Biominer.*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany, **n.d.**, pp. 159–176.
- [67] P. R. Arany, A. Cho, T. D. Hunt, G. Sidhu, K. Shin, E. Hahm, G. X. Huang, J. Weaver, A. C.-H. Chen, B. L. Padwa, et al., *Sci. Transl. Med.* **2014**, *6*, 238ra69.
- [68] U. Schubert, N. Hüsing, *Synthesis of Inorganic Materials*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2012**.
- [69] P. Bar-Yosef Ofir, R. Govrin-Lippman, N. Garti, H. Füredi-Milhofer, *Cryst. Growth Des.* **2004**, *4*, 177–183.
- [70] O. Mekmene, S. Quillard, T. Rouillon, J.-M. Bouler, M. Piot, F. Gaucheron, *Dairy Sci. Technol.* **2009**, *89*, 301–316.
- [71] M. S. Johnsson, G. H. Nancollas, *Crit. Rev. oral Biol. Med.* **1992**, *3*, 61–82.
- [72] A. Rao, H. Cölfen, in *Biominer. Biomater.* (Eds.: C. Aparicio, M.-P. Ginebra), Woodhead Publishing, **2015**, pp. 51–94.
- [73] M. Niederberger, H. Cölfen, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 3271–3287.
- [74] Y. Y. Kim, E. P. Douglas, L. B. Gower, *Langmuir* **2007**, *23*, 4862–4870.
- [75] R. L. Penn, *Science (80-)*. **1998**, *281*, 969–971.
- [76] H. Zhang, J. F. Banfield, *CrystEngComm* **2014**, *16*, 1568–1578.
- [77] H. Cölfen, M. Antonietti, *Mesocrystals and Nonclassical Crystallization - Cölfen - Wiley Online Library*,

- 2008.**
- [78] H. Cölfen, M. Antonietti, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2005**, *44*, 5576–5591.
- [79] D. Andelman, F. Brochard, J.-F. Joanny, *J. Chem. Phys.* **1987**, *86*, 3673.
- [80] M. C. Petty, *Langmuir-Blodgett Films*, Cambridge University Press, **1996**.
- [81] A. Ulman, *An Introduction to Ultrathin Organic Films from Langmuir-Blodgett to Self-Assembly*, Elsevier, **1991**.
- [82] A. Ulman, Ed., *Organic Thin Films And Surfaces: Directions For The Nineties*, Academic Press, **1995**.
- [83] H.-J. Butt, K. Graf, M. Kappl, *Physics and Chemistry of Interfaces*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2013**.
- [84] R. A. Hann, *Langmuir-Blodgett Films*, Springer, **1990**.
- [85] V. Kaganer, H. Möhwald, P. Dutta, *Rev. Mod. Phys.* **1999**, *71*, 779–819.
- [86] C. R. Flach, J. W. Brauner, J. W. Taylor, R. C. Baldwin, R. Mendelsohn, *Biophys. J.* **1994**, *67*, 402–410.
- [87] R. Mendelsohn, G. Mao, C. R. Flach, *Biochim. Biophys. Acta* **2010**, *1798*, 788–800.
- [88] A. H. Muentert, J. Hentschel, H. G. Börner, G. Brezesinski, *Langmuir* **2008**, *24*, 3306–3316.
- [89] S. Taßler, Physical-Chemical Investigation of Newly Synthesised Lysine-Based Amino-Functionalised Lipids for Gene Transfection in 2D and 3D Model Systems Dissertation Zur Erlangung Des Akademischen Grades, **2015**.
- [90] G. Binnig, C. F. Quate, *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56*, 930–933.
- [91] G. Friedbacher, H. Bubert, Eds., *Surface and Thin Film Analysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2002**.
- [92] H. J. Whitlow, K. Kristiansen, O. Hunderi, *Surface Characterization*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany, **1997**.
- [93] K. L. Mittal, Ed., *Particles on Surfaces*, Springer US, Boston, MA, **1989**.
- [94] P. W. Peter Eaton, *Atomic Force Microscopy*, Oxford University Press, Oxford, **2010**.
- [95] J. A. Venables, *Introduction to Surface and Thin Film Processes*, Cambridge University Press, Cambridge, **2000**.
- [96] R. T. Haasch, in *Pract. Mater. Charact.*, Springer New York, New York, NY, **2014**, pp. 93–132.
- [97] E. De Giglio, N. Ditaranto, L. Sabbatini, in *Polym. Surf. Charact.* (Ed.: L. Sabbatini), De Gruyter, Berlin, Boston, **2014**.
- [98] S. L. McArthur, G. Mishra, C. D. Easton, in *Surf. Anal. Tech. Biol.*, Springer International Publishing, Cham, **2014**, pp. 9–36.
- [99] M.R. Sardela Jr., in *Theor. Concepts X-Ray Nanoscale Anal. Theory Appl.* (Eds.: A. Benediktovich, I. Feranchuk, A. Ulyanenkov), Springer, Heidelberg; New York; Dordrecht; London, **2014**, pp. 1–41.
- [100] A. Altomare, C. Cuocci, A. Moliterni, R. Rizzi, in *Inorg. Micro- Nanomater. Synth. Charact.* (Eds.: A. Dibenedetto, M. Aresta), De Gruyter, Berlin, **2013**, pp. 57–91.
- [101] M. R. S. Jr, *X-Ray Diffraction and Reflectivity*, **2014**.
- [102] R. Comparelli, E. Fanizza, M. Striccoli, M. L. Curri, in *Inorg. Micro- Nanomater. Synth. Charact.* (Eds.: A. Dibenedetto, M. Aresta), De Gruyter, Berlin, **2013**, pp. 157–198.
- [103] N. Yao, Z. L. Wang, *Handbook of Microscopy for Nanotechnology*, Springer, **2005**.
- [104] R. F. Egerton, *Physical Principles of Electron Microscopy*, Springer, **2005**.
- [105] D. J. Smith, in *RSC Nanosci. Nanotechnol.*, **2008**, pp. 1–29.
- [106] A. R. Lupini, S. N. Rashkeev, M. Varela, A. Y. Borisevich, M. P. Oxley, K. van Benthem, Y. Peng, N. de Jonge, G. M. Veith, S. T. Pantelides, et al., **2011**, pp. 28–65.
- [107] J. Thomas, T. Gemming, *Analytische Transmissionselektronenmikroskopie: Eine Einführung Für Den Praktiker*, Springer, **2013**.
- [108] D. Vollhardt, G. Brezesinski, *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119*, 9934–9946.
- [109] T. Naolou, H. Hussain, S. Baleed, K. Busse, B. D. Lechner, J. J. Kressler, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2015**, *468*, 22–30.
- [110] F. Brinzeu, B. Dobner, G. Brezesinski, *Chem. - A Eur. J.* **2002**, *8*, 3203–3210.
- [111] D. Vollhardt, U. Gehlert, S. Siegel, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **1993**, *76*, 187–195.
- [112] E. M. Adams, H. C. Allen, *Atmosphere (Basel)*. **2013**, *4*, 315–336.
- [113] D. Volkmer, M. Fricke, D. Vollhardt, S. Siegel, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2002**, 4547.
- [114] A. Gericke, H. Hühnerfuss, *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 12899–12908.
- [115] C. Y. Tang, H. C. Allen, *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 7383–7393.
- [116] G. Ma, H. C. Allen, *Langmuir* **2007**, *23*, 589–597.
- [117] P. Dynarowicz-Łątka, A. Dhanabalan, O. N. Oliveira, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2001**, *91*, 221–293.
- [118] C. I. Cámara, M. V. C. Quiroga, N. Wilke, A. Jimenez-Kairuz, L. M. Yudi, *Electrochim. Acta* **2013**, *94*, 124–133.

- [119] C. Y. Tang, Z. Huang, H. C. Allen, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 17068–17076.
- [120] G. Brezesinski, H. Möhwald, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2003**, *100–102*, 563–584.
- [121] M. N. Islam, T. Kato, *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *294*, 288–294.
- [122] W.-T. Li, Y.-M. Yang, C.-H. Chang, *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *327*, 426–432.
- [123] J. Gómez-Morales, M. Iafisco, J. M. Delgado-López, S. Sarda, C. Drouet, *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* **2013**, *59*, 1–46.
- [124] S. Mondal, B. Mondal, A. Dey, S. S. Mukhopadhyay, *J. Miner. Mater. Charact. Eng.* **2012**, *11*, 55–67.
- [125] S. V. Dorozhkin, *Materials (Basel)*. **2009**, *2*, 399–498.
- [126] a. Boyd, M. Akay, B. J. Meenan, *Surf. Interface Anal.* **2003**, *35*, 188–198.
- [127] C. Rodriguez-Emmenegger, S. Janel, A. de los Santos Pereira, M. Bruns, F. Lafont, *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 5740–5751.
- [128] T. Zhang, M. G. Cathcart, A. S. Vidalis, H. C. Allen, *Chem. Phys. Lipids* **2016**, *200*, 24–31.
- [129] S. Thomas, <http://www.speconline.de> **2012**.
- [130] R. Mendelsohn, J. W. Brauner, A. Gericke, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1995**, *46*, 305–334.
- [131] G. Weidemann, D. Vollhardt, *Biophys. J.* **1996**, *70*, 2758–2766.
- [132] G. Weidemann, U. Gehlert, D. Vollhardt, *Langmuir* **1995**, *11*, 864–871.
- [133] G. Weidemann, D. Vollhardt, *Thin Solid Films* **1995**, *264*, 94–103.
- [134] V. M. Kaganer, M. A. Osipov, I. R. Peterson, *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 3512–3527.
- [135] M. N. Islam, T. Kato, *J. Chem. Phys.* **2004**, *121*, 10217–10222.
- [136] M. N. Islam, T. Kato, *Langmuir* **2003**, *19*, 7201–7205.
- [137] F. V. Mercado, B. Maggio, N. Wilke, *Chem. Phys. Lipids* **2011**, *164*, 386–392.
- [138] N. N. Casillas-Ituarte, X. Chen, H. Castada, H. C. Allen, *Society* **2010**, 9485–9495.
- [139] E. E. Kooijman, D. Vaknin, W. Bu, L. Joshi, S. W. Kang, A. Gericke, E. K. Mann, S. Kumar, *Biophys. J.* **2009**, *96*, 2204–2215.
- [140] W. Probst, D. Möbius, H. Rahmann, *Cell. Mol. Neurobiol.* **1984**, *4*, 157–176.
- [141] A. D. Petelska, A. Niemcunowicz-Janica, M. Szeremeta, Z. a Figaszewski, *Langmuir* **2010**, *26*, 13359–13363.
- [142] S. Kewalramani, H. Hlaing, B. M. Ocko, I. Kuzmenko, M. Fukuto, *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 489–495.
- [143] C. Y. Tang, Z. Huang, H. C. Allen, *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 34–40.
- [144] H. J. Vogel, R. D. Brox, H. Ouyang, in *Calcium-Binding Protein Protoc.* (Ed.: H.J. Vogel), Humana Press, Totowa, New Jersey, **2002**, pp. 3–20.
- [145] P. Dynarowicz-Łątka, A. Dhanabalan, O. N. Oliveira, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 5992–6000.
- [146] L. Peltonen, J. Yliruusi, *J. Colloid Interface Sci.* **2000**, *227*, 1–6.
- [147] M. I. Viseu, A. M. G. da Silva, S. M. B. Costa, *Langmuir* **2001**, *17*, 1529–1537.
- [148] I. Cabasso, E. Stesikova, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 14379–14389.
- [149] D. P. Parazak, J. Y.-J. Uang, B. Turner, K. J. Stine, *Langmuir* **1994**, *10*, 3787–3793.
- [150] X. Du, B. Shi, Y. Liang, *Langmuir* **1998**, *14*, 3631–3636.
- [151] B. J. Ofir, R. Govrin-Lippman, N. Gartl, H. Furedi-Milhofer, *Cryst. Growth Des.* **2004**, *4*, 177–183.
- [152] F. Nudelman, P. H. H. Bomans, A. George, G. de With, N. A. J. M. Sommerdijk, *Faraday Discuss.* **2012**, *159*, 357–370.
- [153] H. C. Margolis, S. Kwak, H. Yamazaki, **2014**, *5*, 1–10.
- [154] A. Bigi, E. Boanini, B. Bracci, G. Falini, K. Rubini, *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *95*, 291–296.
- [155] A. Bigi, E. Boanini, M. Borghi, G. Cojazzi, S. Panzavolta, N. Roveri, *J. Inorg. Biochem.* **1999**, *75*, 145–151.
- [156] A. Bigi, E. Boanini, G. Cojazzi, G. Falini, S. Panzavolta, *Cryst. Growth Des.* **2001**, *1*, 239–244.
- [157] A. Tsortos, G. H. Nancollas, *J. Colloid Interface Sci.* **2002**, *250*, 159–167.
- [158] A. Bigi, E. Boanini, G. Falini, S. Panzavolta, N. Roveri, *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *78*, 227–233.
- [159] A. Bigi, *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *95*, 291–296.
- [160] C. Akpo, E. Weber, J. Reiche, *New J. Chem.* **2006**, *30*, 1820–1833.
- [161] A. Bertin, T. Muller, J. L. Gallani, D. Felder-Flesch, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4699–4702.
- [162] MarvinSketch, **2013**, ChemAxon <http://www.chemaxon.com>.
- [163] T. J. Cho, R. a Zangmeister, R. I. Maccuspie, A. K. Patri, V. a Hackley, *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 2665–2676.
- [164] A. M. Goncalves da Silva, E. J. M. Filipe, J. M. R. D'Oliveira, J. M. G. Martinho, *Langmuir* **1996**, *12*, 6547–6553.
- [165] Z. Szakács, S. Béni, B. Noszál, *Talanta* **2008**, *74*, 666–674.
- [166] P. U. Müller, E. Weber, G. Rheinwald, W. Seichter, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3757.
- [167] F. Penacorada, J. Reiche, S. Katholy, L. Brehmer, M. L. Rodriguez-Mendez, F. Peiiacorada, L. Brehmer, *Langmuir* **1995**, *11*, 4025–4030.
- [168] E. Bertoni, A. Bigi, G. Falini, S. Panzavolta, N. Roveri, *J. Mater. Chem.* **1999**, *9*, 779–782.

- [169] K. Lin, C. Wu, J. Chang, *Acta Biomater.* **2014**, *10*, 4071–4102.
- [170] T. Kollmann, P. Simon, W. Carrillo-Cabrera, C. Braunbarth, T. Poth, E. V. Rosseeva, R. Kniep, *Chem. Mater.* **2010**, *22*, 5137–5153.
- [171] C. Du, F. Z. Cui, W. Zhang, Q. L. Feng, X. D. Zhu, K. De Groot, K. de Groot, *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *50*, 518–527.
- [172] A. Ethirajan, U. Ziener, A. Chuvilin, U. Kaiser, H. Cölfen, K. Landfester, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 2221–2227.
- [173] A. Ferreira, C. Oliveira, F. Rocha, *J. Cryst. Growth* **2003**, *252*, 599–611.
- [174] G. Weidemann, D. Vollhardt, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **1995**, *100*, 187–202.
- [175] M. A. Ahmed, S. F. Mansour, S. I. El-Dek, S. M. Abd-Elwahab, M. K. Ahmed, *Ceram. Int.* **2014**, *40*, 12807–12820.
- [176] S. Singh, V. Singh, S. Aggarwal, U. K. Mandal, *Chem. Pap.* **2010**, *64*, 491–498.
- [177] J. P. Maity, T. J. Lin, H. P. H. Cheng, C. Y. Chen, A. S. Reddy, S. B. Atla, Y. F. Chang, H. R. Chen, C. C. Chen, *Int. J. Mol. Sci.* **2011**, *12*, 3821–3830.
- [178] S. Mandel, A. C. Tas, *Mater. Sci. Eng. C* **2010**, *30*, 245–254.
- [179] G. Sauer, W. Zunic, J. Durig, R. Wuthier, *Calcif. Tissue Int.* **1994**, *54*, 414–420.
- [180] I. Petrov, B. Šoptrajanov, N. Fuson, J. R. Lawson, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Spectrosc.* **1967**, *23*, 2637–2646.
- [181] C. A. Beevers, *Acta Cryst.* **1958**, *11*, 273–277.
- [182] K. Suguna, C. Sekar, *J. Miner. Mater. Charact. Eng.* **2011**, *10*, 625–636.
- [183] S. Zhou, Q. Su, X. Li, J. Weng, *Mater. Sci. Eng. A* **2006**, *430*, 341–345.
- [184] S. Sudheesh, J. Ahmad, G. S. Singh, *ISRN Phys. Chem.* **2012**, *2012*, 1–6.
- [185] A. Cüneyt Tas, *Biomaterials* **2000**, *21*, 1429–1438.
- [186] H. Alobeedallah, J. L. Ellis, R. Rohanizadeh, H. Coster, F. Dehghani, **2011**, *25*, 12–19.
- [187] A. Sofwan, F. Alqap, I. Sopyan, *Indian J. Chem.* **2009**, *48A*, 1492–1500.
- [188] C. C. R. C. C. B. M. A. Barbosa, **2006**, 455–463.
- [189] K. P. Sanosh, M. C. Chu, A. Balakrishnan, Y. J. Lee, T. N. Kim, S. J. Cho, *Curr. Appl. Phys.* **2009**, *9*, 1459–1462.
- [190] D. Choi, K. G. Marra, P. N. Kumta, *Mater. Res. Bull.* **2004**, *39*, 417–432.
- [191] M. J. J. M. van Kemenade, P. L. de Bruyn, *J. Colloid Interface Sci.* **1987**, *118*, 564–585.
- [192] A. Taubert, C. Balischewski, D. Hentrich, T. Elschner, S. Eidner, C. Günter, K. Behrens, T. Heinze, *Inorganics* **2016**, *4*, 33.
- [193] A. Bigi, E. Boanini, D. Walsh, S. Mann, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2002**, *41*, 2163.
- [194] J. Chen, B. Chu, B. S. Hsiao, *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **2006**, *79A*, 307–317.
- [195] A. Bigi, E. Boanini, M. Gazzano, M. A. Kojdecki, K. Rubini, *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 274.
- [196] D. Hentrich, Grenzflächen-Kontrollierte Mineralisierung von Calciumphosphat, **2011**.
- [197] A. Salama, M. Neumann, C. Günter, A. Taubert, *Beilstein J. Nanotechnol.* **2014**, *5*, 1553–1568.
- [198] Y. Chen, W. Gu, H. Pan, S. Jiang, R. Tang, *CrystEngComm* **2014**, *16*, 1864–1867.
- [199] S. Li, L. Wang, *CrystEngComm* **2012**, *14*, 8037.
- [200] S. Jiang, H. Pan, Y. Chen, X. Xu, R. Tang, *Faraday Discuss.* **2015**, *179*, 451–461.
- [201] Y. Y. Hu, X. P. Liu, X. Ma, A. Rawal, T. Prozorov, M. Akinc, S. K. Mallapragada, K. Schmidt-Rohr, *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 2481–2490.
- [202] Y. Sugiura, K. Onuma, Y. Kimura, H. Miura, K. Tsukamoto, *J. Cryst. Growth* **2011**, *332*, 58–67.
- [203] L. Wang, G. H. Nancollas, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 4628–4669.
- [204] W. He, P. Kjellin, F. Currie, P. Handa, C. S. Knee, J. Bielecki, L. R. Wallenberg, M. Andersson, **2012**, 892–902.
- [205] C. R. Flach, A. Gericke, R. Mendelsohn, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 58–65.
- [206] T. D. Andreeva, J. G. Petrov, G. Brezesinski, H. Möhwald, *Langmuir* **2008**, *24*, 8001–7.
- [207] C. Stefaniu, G. Brezesinski, H. Möhwald, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2014**, *208C*, 197–213.
- [208] *ISO 15472:2010, Surface Chemical Analysis - X-Ray Photoelectron Spectrometers - Calibration of Energy Scales.*, **n.d.**
- [209] *ISO 19318:2004, Surface Chemical Analysis - X-Ray Photoelectron Spectroscopy - Reporting of Methods Used for Charge Control and Charge Correction.*, **n.d.**
- [210] K. L. Parry, A. G. Shard, R. D. Short, R. G. White, J. D. Whittle, A. Wright, *Surf. Interface Anal.* **2006**, *38*, 1497–1504.
- [211] S. Tanuma, C. J. Powell, D. R. Penn, *Surf. Interface Anal.* **1994**, *21*, 165–176.
- [212] R. Phenomena, J. H. Scofield, *J. Electron Spectros. Relat. Phenomena* **1976**, *8*.
- [213] J. Xu, I. S. Butler, D. F. R. Gilson, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **1999**, *55*, 2801–2809.

- [214] D. Pham Minh, N. D. Tran, A. Nzihou, P. Sharrock, *Mater. Sci. Eng. C* **2013**, 33, 2971–2980.
- [215] H. Alobeedallah, J. L. Ellis, R. Rohanizadeh, H. Coster, F. Dehghani, *Trends Biomater. Artif. Organs* **2011**, 25, 12–19.

II. Veröffentlichungen

Publikationen und Patente

1. Hentrich, D.; Junginger, M.; Bruns, M.; Börner, H. G.; Brandt, J.; Brezesinski, G.; Taubert, A. Interface-Controlled Calcium Phosphate Mineralization: Effect of Oligo(aspartic Acid)-Rich Interfaces. *CrystEngComm* **2015**, *17* (36), 6901–6913. DOI: 10.1039/c4ce02274b
2. Taubert, A.; Balischewski, C.; Hentrich, D.; Elschner, T.; Eidner, S.; Günter, C.; Behrens, K.; Heinze, T. Water-Soluble Cellulose Derivatives Are Sustainable Additives for Biomimetic Calcium Phosphate Mineralization. *Inorganics* **2016**, *4* (4), 33. DOI: 10.3390/inorganics4040033
3. UNILEVER PLC et al., 2016. Hair Care Composition. Erfinder: Dawson, J. S.; Hentrich, D.; Jarvis, A. P.; Kita-Tokarczyk, K. E.; Limer, A. J. 31.08.2016. Anmeldung: 29.11.2012. Patentnummer: EP2925286 (B1).
4. UNILEVER PLC et al., 2016. Hair Care Composition. Erfinder: Hentrich, D.; Jarvis, A. P.; Kita-Tokarczyk, K. E.; Limer, A. J.; Robson, S. 14.09.2016. Anmeldung: 29.11.2012. Patentnummer: EP2925287 (B1).

Die nachfolgenden Publikationen sind Teil dieser Arbeit

Kapitel 1: Grenzflächen-kontrollierte Calciumphosphat Mineralisation unterhalb einer CHOL-HEM Monolage

Hentrich, D.; Brezesinski, G.; Kübel, C.; Bruns, M.; Taubert, A. Mineralization of Calcium Phosphate beneath a Monolayer of Cholesterol Hemisuccinate.

Einreichung geplant im April 2017.

Kapitel 2: Grenzflächen-kontrollierte Calciumphosphat Mineralisation unterhalb einer A-CHOL Monolage

Hentrich, D.; Taabache, S.; Brezesinski, G.; Lange, N.; Unger, W.; Kübel, C.; Bertin, A.; Taubert, A. A Dendritic Amphiphile for Efficient Control of Biomimetic Calcium Phosphate Mineralization. *Macromol. Biosci.* **2017**, DOI: 10.1002/mabi.201600524

Kapitel 3: Bulk Mineralisation von Calciumphosphat in Anwesenheit von NTA und EDTA

Hentrich, D.; Espanol, M.; Ginebra, M.-P.; Taubert, A. Calcium Phosphate Mineralization using NTA and EDTA as complexing agents.

In Vorbereitung

Tagungsbeiträge**Bio-inspired Materials 2014**

Hentrich, D.; Interface-controlled calcium phosphate mineralization: effect of oligo(aspartic acid)-rich interfaces; Potsdam 18.-21.3.2014, Poster.

Polydays 2014

Hentrich, D.; Interface-controlled calcium phosphate mineralization: effect of oligo(aspartic acid)-rich interfaces; Berlin 2.10.2014, Vortrag.

Frühjahrssymposium JCF Münster

Hentrich, D.; Interface-controlled calcium phosphate mineralization: effect of oligo(aspartic acid)-rich interfaces; Münster 25.-28.3.2015, Poster.

BioMat 2015

Hentrich, D.; Interface-controlled calcium phosphate mineralization: effect of oligo(aspartic acid)-rich interfaces; Weimar 21.04.2015, Vortrag.

21. Ostwald-Kolloquium

Hentrich, D.; Monolayer-controlled biomimetic calcium phosphate mineralization: effect of a cholesterol-based Newkome amphiphile; Potsdam 28.-29.9.2015, Poster.

III. Danksagung

Zu guter Letzt, möchte ich mich bei allen bedanken die direkt oder auch indirekt zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Mein besonderer Dank gilt dabei Prof. Andreas Taubert für die interessante Themenvergabe, die gute Betreuung sowie den zahlreichen Anregungen und konstruktiven Ratschlägen. Weiterhin möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Gerald Brezesinski bedanken, der mir zum Einem seine Labore mit den entsprechenden Gerätschaften zur Verfügung stellte und zum Anderem bei offenen Fragestellungen und Problemen stets zur Hilfe stand. Für die Begutachtung dieser Arbeit bedanke ich mich bei Prof. Andreas Taubert, Prof. Gerald Brezesinski und Prof. Helmut Cölfen.

Mein weiterer Dank gilt der gesamten Arbeitsgruppe Taubert und der Arbeitsgruppe von Prof. Brezesinski für die Unterstützung jeglicher Art über die letzten Jahre.

Weiterhin möchte ich mich bei Prof. Maria-Pau Ginebra und bei Dr. Montserrat Español für die schöne Zeit und die Hilfe während meines 6-Wöchigen Aufenthalts an der „Universitat Politècnica de Catalunya“ in Barcelona bedanken.

Bei den folgenden Leuten möchte ich mich für die jeweiligen Messungen bedanken. An der Universität Potsdam wurden AFM Messungen von Dr. Alexey Kopyshv und XRD Messungen von Dr. Christina Günter durchgeführt. Weiterhin ermöglichte Dr. Christina Günter den Zugang zum SEM. Die Messungen der Elementaranalysen wurden von Frau Yasemin Mai-Linde und der NMRs von Dr. Matthias Heydenreich und Frau Angela Krtitschka durchgeführt.

Am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung erfolgten TEM Messungen bei Heike Runge und Rona Pitschke und weiterhin wurde von Prof. Klaus Tauer die Möglichkeit gegeben, die pH- und Leitfähigkeitsmessungen durchzuführen.

An der Bundesanstalt für Materialforschung wurden die XPS Messungen des A-CHOL von Dieter Treu, Nele Lange aus dem Arbeitskreis von Prof. Wolfgang Unger durchgeführt. Weiterhin erfolgte die Synthese des dendritischen Cholesterol-basierten Amphiphils (A-CHOL) durch Soraya Taabache und Prof. Annabelle Bertin sowie die Analytik des A-CHOL (mittels ESI-MS von Dr. Jana Falkenhagen, NMR von Dr. Andreas Schäfer und die Elementaranalyse von Dr. Andreas Springer der Freien Universität Berlin).

Am Karlsruhe Nano Micro Facility am Karlsruher Institut für Technologie erfolgten XPS Messungen des CHOL-HEM bei Dr. Michael Bruns und TEM, STEM, HRTEM, SAED, EDXS und

EELS bei Dr. Christian Kübel. Für die XPS Messungen danke ich außerdem dem Bundesministerium für Wirtschaft und Energie.

Das Gelingen dieser Arbeit wäre des Weiteren nicht ohne die Unterstützung meiner Familie und meines Freundes möglich gewesen.

IV. Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich diese Arbeit selbstständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

An Stellen, die dem Wortlaut oder Sinn nach anderen Werken entnommen wurden, sind an entsprechender Stelle unter der genauen Angabe der Quelle deutlich als Entlehnung gekennzeichnet.

Potsdam, den 01.03.2017

Doreen Hentrich