

## Nichtklassische Nukleation

Deutsche Ausgabe: DOI: 10.1002/ange.201915350  
Internationale Ausgabe: DOI: 10.1002/anie.201915350

## Stabile Calciumcarbonat-Pränukleationscluster bestimmen die Flüssig-flüssig-Phasenseparation

Jonathan T. Avaro, Stefan L. P. Wolf, Karin Hauser\* und Denis Gebauer\*

**Abstract:** Flüssig-flüssig-Phasenseparation (liquid-liquid phase separation, LLPS) ist eine Zwischenstufe während der Fällung von Calciumcarbonat und man vermutet, dass sie eine entscheidende Rolle in Biomineralisationsprozessen spielt. In diesem Artikel stellen wir ein Modell vor, in dem die Flüssig-flüssig-Mischungslücke im wässrigen Calciumcarbonatsystem durch die Thermodynamik der Ionenassoziation in der homogenen Phase bestimmt wird, was experimentell durch potentiometrische Titrations und kinetische Studien mittels ATR-FTIR-Spektroskopie bestätigt wird. Der vorgeschlagene Mechanismus erklärt die variable Löslichkeit von amorphen Calciumcarbonaten und räumt Widersprüche in Literaturdaten aus. Da flüssig-flüssig amorphe Polymorphie berücksichtigt wird, liefert das Modell Hinweise zum Mechanismus der Polymorphselektion. Es ist allgemein und sollte für andere Systeme als Calciumcarbonat überprüft werden. Ausgehend von stabilen Pränukleationsclustern anstelle von in- oder metastabilen Fluktuationen ergibt sich ein neuer Blickwinkel auf die physikalische Chemie der Flüssig-flüssig-Phasenseparationen in Biomineralisationsprozessen und darüber hinaus.

Flüssig-flüssig-Phasenseparation (liquid-liquid phase separation, LLPS) tritt in Zellen auf,<sup>[1]</sup> spielt eine Rolle bei Infektionen<sup>[2]</sup> und ist fundamental bei Selbstorganisationsprozessen von Amphiphilen.<sup>[3]</sup> Andererseits werden flüssig-flüssig separierte Vorstufenspezies in anorganischen Systemen, wie beispielsweise Oxidschmelzen<sup>[4]</sup> und wässrigen Salzlösungen, gebildet. Für letztere ist Calciumcarbonat, das am häufigsten vorkommende Biomineral,<sup>[5,6]</sup> das Paradebeispiel.<sup>[7]</sup> Während bereits in den 1990er Jahren die sogenannten „polymerinduzierten flüssigen Vorstufen“ (polymer-induced liquid precursors, PILPs) von Calciumcarbonat be-

schrieben wurden,<sup>[8]</sup> ist mittlerweile erwiesen, dass es sich bei diesen Spezies vielmehr um polymerstabilisierte als um polymerinduzierte Zustände handelt, da sie auch in rein anorganischen Systemen auftreten.<sup>[9–11]</sup> Aufgrund ihrer wichtigen Rolle in der Kontrolle von Kristallmorphologien während der Biomineralisation<sup>[12]</sup> befassen sich viele Forschungsarbeiten intensiv mit diesen flüssigen und festen amorphen Zwischenstufen von CaCO<sub>3</sub>.<sup>[13–17]</sup> In der Tat haben viele Studien eindrucksvoll ihre enorme Nützlichkeit zur Kontrolle der Kristallisation von Calciumcarbonat auch in vitro veranschaulicht.<sup>[7,18–23]</sup>

Allerdings bleiben die Mechanismen der Bildung flüssiger oder fester amorpher Zwischenstufen umstritten.<sup>[24]</sup> Jüngste Arbeiten<sup>[25,26]</sup> schlagen vor, dass die Auffassungen der klassischen Nukleationstheorie ausreichen, um experimentelle Beobachtungen bezüglich Präzipitation aus dem metastabilen Bereich des Phasendiagramms, also nahe an der binodalen Grenze, zu erklären. Es wurde ebenfalls vorgeschlagen, dass PILPs eigentlich nicht flüssig seien, sondern aus festen, polymervernetzten Nanopartikeln bestünden.<sup>[14]</sup> Auf der anderen Seite wurde spinodale Entmischung, die barrierefreie Fällung aus dem instabilen Bereich des Phasendiagramms, als Mechanismus hin zur Bildung von Mineraltröpfchen identifiziert.<sup>[27]</sup> Die entsprechenden Vorstellungen von Cahn und Hillard<sup>[28]</sup> wurden von Zou et al. verwendet, um daraus ein Phasendiagramm für das flüssige Calciumcarbonatsystem abzuleiten,<sup>[29]</sup> das, im Gegensatz zu vorherigen Modellen,<sup>[27,30]</sup> eine obere kritische Lösungstemperatur aufweist. Trotz der Erklärungskraft des sogenannten „Pränukleationscluster-Weges“ (pre-nucleation cluster (PNC) pathway),<sup>[31,32]</sup> manchmal als „nichtklassische Nukleation“ bezeichnet, mangelt es dennoch an einer entsprechenden quantitativen Theorie für die Phasenseparation im wässrigen Calciumcarbonatsystem.

Wir haben hier ein Modell entwickelt, in dem die Thermodynamik der Ionenassoziation in der homogenen Phase, basierend auf dem PNC-Modell, die Flüssig-flüssig-Mischungslücke des wässrigen Calciumcarbonatsystemes bestimmt. Dieses Modell wurde durch potentiometrische Titrations und Stopped-Flow-ATR-FTIR-Spektroskopie experimentell bestätigt. Der Mechanismus erklärt die variable Löslichkeit fester amorpher Calciumcarbonate aus verschiedenen Regionen der metastabilen Zone des Flüssig-flüssig-Phasendiagramms. Dies bringt zuvor widersprüchliche Literaturdaten<sup>[25,33,34]</sup> in Einklang, wobei das Modell eine untere kritische Lösungstemperatur der Flüssig-flüssig-Mischungslücke festlegt. Es beinhaltet flüssig-flüssig amorphe Polymorphie,<sup>[35]</sup> wodurch das Modell Hinweise zum Mechanismus der Polymorphselektion liefern dürfte.<sup>[36]</sup> Insgesamt bietet das Modell eine neue physikalisch-chemische Sichtweise auf das

[\*] Dr. J. T. Avaro, Dr. S. L. P. Wolf, Prof. Dr. K. Hauser, Prof. Dr. D. Gebauer  
Fachbereich Chemie, Universität Konstanz  
Universitätsstraße 10, 78457 Konstanz (Deutschland)  
E-Mail: Karin.Hauser@uni-konstanz.de  
Prof. Dr. D. Gebauer  
Derzeitige Adresse: Institut für Anorganische Chemie  
Leibniz Universität Hannover  
Callinstraße 9, 30167 Hannover (Deutschland)  
E-Mail: gebauer@acc.uni-hannover.de

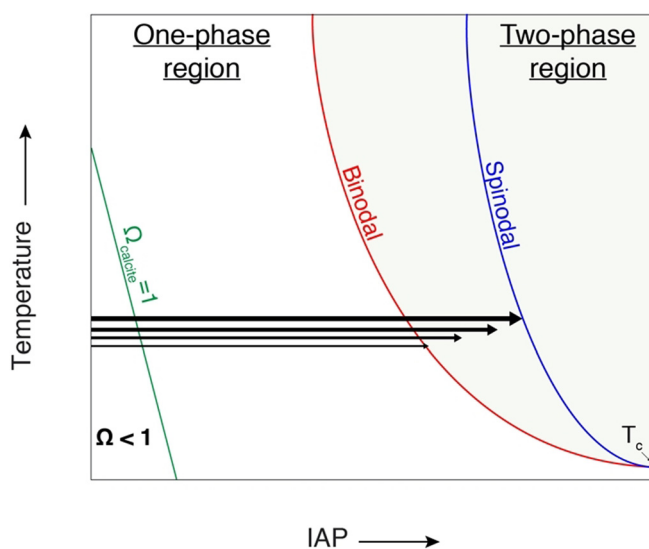
Hintergrundinformationen und die Identifikationsnummer (ORCID) eines Autors sind unter <https://doi.org/10.1002/ange.201915350> zu finden.

© 2020 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution License, die jede Nutzung des Beitrages in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert wird.

Phänomen der LLPS, basierend auf stabilen PNCs anstelle von in- oder metastabilen Fluktuationen. Das Modell ist an sich allgemein und sollte zukünftig für andere Systeme untersucht werden.

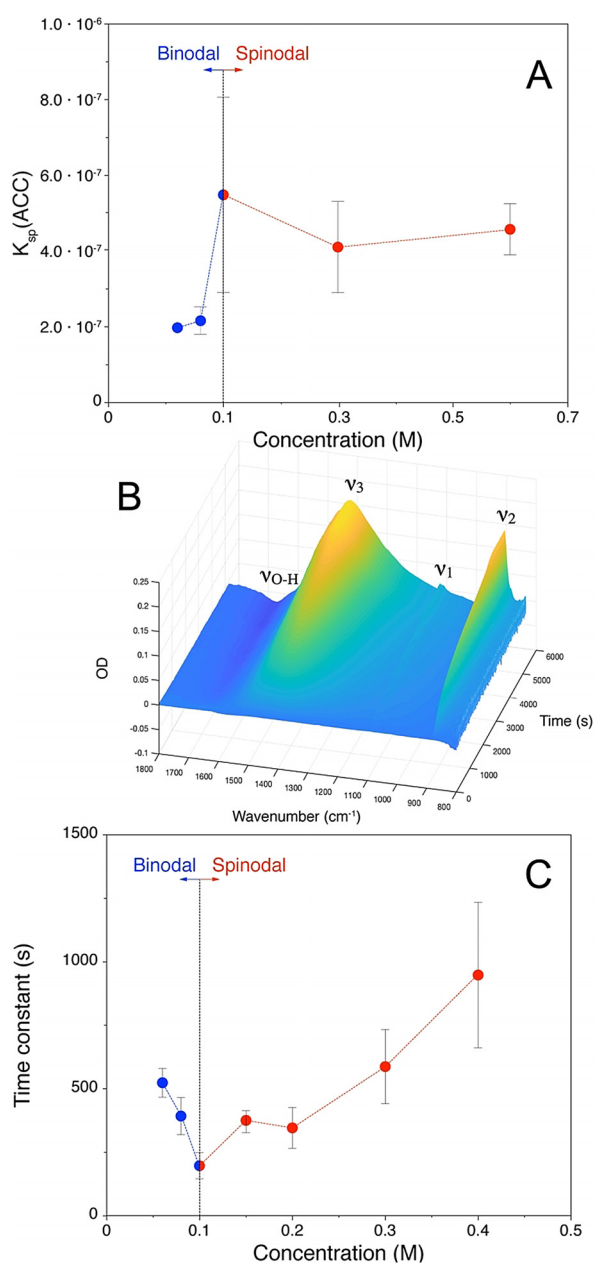
Wie ausführlich in der ergänzenden Diskussion gezeigt (Abschnitte 1 und 2, Hintergrundinformationen), ist die experimentell beobachtete Ionenassoziation von Calciumcarbonat (Hintergrundinformationen, Abbildung S1) konsistent mit der Bildung von PNCs,<sup>[34]</sup> im Gegensatz zu alternativen Modellen.<sup>[26]</sup> Gemäß der Theorie des sogenannten PNC-Weges, der ausführlich anderweitig eingeführt wurde,<sup>[32]</sup> können PNCs zu phasenseparierten Nanotröpfchen werden, wenn die entsprechende flüssig-flüssig binodale Grenze überschritten wird. Dies geschieht aufgrund der Abnahme der Dynamiken, verursacht durch die Zunahme der Koordinationszahlen von Calcium- und Carbonationen innerhalb der PNCs. Das heißt, dass, im Gegensatz zur klassischen Nukleationstheorie<sup>[37]</sup> und anderen bestehenden Theorien zur spinodalen Entmischung,<sup>[28]</sup> thermodynamisch stabile Populationen von Ionenzusammenschlüssen anstelle von in- oder metastabilen Fluktuationen als fundamentale Vorstufen zur neuen Phase dienen.<sup>[24]</sup> Vorige Arbeiten zur Einschätzung der Dynamik des Wasserstoffbrückenbindungsnetzwerks durch THz-Absorptionsspektroskopie enthüllten eine deutliche Änderung in der prä-nuklearen Lösung, wenn das Löslichkeitslimit der amorphen Calciumcarbonate (ACCs), die sich unter diesen Bedingungen bilden, überschritten wird.<sup>[11]</sup> Dies wird durch LLPS verursacht und stimmt mit der vorgeschlagenen Änderung der Dynamik in der Lösung überein, wenn die Phasenseparation über PNCs erfolgt.<sup>[27,32]</sup> Somit ermöglichen potentiometrische Titrations über quantitative Bestimmung entsprechender Ionenaktivitätsprodukte (IAP) der Löslichkeit der anfänglich gebildeten ACCs die Definition der flüssig-flüssig binodalen Grenzen in einem Temperaturbereich von 15–45 °C (Tabelle S1). Gemäß vorheriger Arbeiten bilden sich Proto-Calcit (pc)-ACC und Proto-Vaterit (pv)-ACC bei pH 9.00 beziehungsweise pH 10.0<sup>[34,38]</sup> und Proto-Aragonit (pa)-ACC bei pH 10.0 oberhalb von 35 °C.<sup>[39]</sup>

Vorherige Arbeiten legen ebenfalls nahe, dass diese ACCs durch Dehydrierung und Verfestigung der entsprechenden dichten Flüssigkeiten gebildet werden.<sup>[11]</sup> Da diese dichten Flüssigkeiten durch flüssig-flüssig-Entmischung entstehen, welche mit einer endlichen Wahrscheinlichkeit nach Überschreiten der flüssig-flüssig binodalen Grenze eintritt, wird durch Erhöhung der Mischungsrate der Calcium- und Carbonatlösungen tiefer und tiefer in den metastabilen Bereich der flüssig-flüssig-Mischungslücke vorgedrungen, bevor die Entmischung auftritt (Abbildung 1). Wenn der vorgeschlagene Mechanismus wahr ist, sollte daher die ACC Löslichkeit mit zunehmender Zugaberrate fortschreitend zunehmen, was in der Tat beobachtet wird (Abbildungen S2 und S3). ATR-FTIR-Spektren der in Ethanol abgeschreckten ACCs zeigen, dass bei pH 9.00 bei den langsamsten und schnellsten Zugaberraten Proto-Calcit erhalten bleibt, was darauf hinweist, dass die beobachtete höhere Löslichkeit auf einen höheren Wassergehalt zurückzuführen ist (Abbildung S4). Die höchst mögliche Metastabilität der dichten Flüssigkeiten ist durch die flüssig-flüssig spinodale Grenze gegeben (Abbildung 1). Für den Mechanismus der Bildung von festem ACC durch



**Abbildung 1.** Schematische Abbildung der Erklärung der beobachteten Mischungsrate-abhängigen ACC Löslichkeit. Wie zuvor vorgeschlagen,<sup>[27,30]</sup> befindet sich eine Flüssig-flüssig-Mischungslücke im metastabilen Bereich des Fest-flüssig-Phasendiagramms (dies ist bei Ionenaktivitätsprodukten (IAPs) der Fall, die einem Übersättigungsverhältnis  $\Omega > 1$  bezüglich des stabilen Polymorphs Calcit entsprechen; Einphasenbereich (one-phase region); Zweiphasenbereich (two-phase region)). Das Flüssig-flüssig-Phasendiagramm weist eine untere kritische Lösungstemperatur,  $T_c$ , auf. Der Übersichtlichkeit halber ist nur die fest-flüssig (solid-liquid, S-L) binodale Kurve von Calcit gezeigt und der rechte Zweig der Flüssig-flüssig-Mischungslücke, der die Zusammensetzungen der dichten Flüssigkeiten definiert, ist nicht gezeigt. Höhere Zugaberraten (dicke Pfeile, die die flüssig-flüssig binodale Grenze überqueren und von links nach rechts zeigen) ermöglichen es in stärkerem Maße in die Flüssig-flüssig-Mischungslücke einzudringen als mit langsameren Zugaberraten (entspricht den dünneren Pfeilen) bevor Entmischung auftritt, was zu dichten Flüssigkeiten mit zunehmender Metastabilität führt. Entstehen anschließend ACCs durch Dehydrierung und Verfestigung dieser so-gebildeten dichten flüssigen Vorstufen, spiegelt deren Löslichkeit die Metastabilität der flüssigen Vorstufen wider. Zunehmend schnelleres Mischen (dargestellt durch stufenweise dickere Pfeile) von Calcium- und Carbonatlösungen ermöglicht daher den Zugang zu festen ACCs zunehmender Metastabilität und Löslichkeit. In diesem Mechanismus ist die höchst mögliche Metastabilität der dichten flüssigen Vorstufe, und damit die höchste Löslichkeit von ACC, durch die spinodale Grenze bestimmt.

Dehydrierung und Verfestigung von flüssigen Vorstufen bringt dies grundsätzlich mit sich, dass die flüssig-flüssig spinodale Grenze durch Löslichkeit von ACC nicht übertroffen werden kann. Da es nicht möglich war, ausreichend hohe Zugaberraten im Titrationsaufbau zu erreichen, um diese Grenze zu untersuchen, haben wir konzentriertere Lösungen bei gleichzeitiger Messung der IAPs direkt vermischt. Die gemessenen ACC Löslichkeiten (Abbildung 2 A, Abbildung S5) erreichten in der Tat ein Maximum, welches die flüssig-flüssig spinodale Grenze darstellt (Tabelle S3). Diese Werte sind in ausgezeichnetener Übereinstimmung mit der zuvor von Brečević und Nielsen bestimmten Löslichkeit von ACC.<sup>[33]</sup> Wir zeigen daher, dass ACCs aufgrund ihres Bildungsmechanismus über flüssige Vorstufen eine variable Löslichkeit aufweisen, wobei die höchst mögliche Löslichkeit durch das Mischen von Calcium- und Carbonatlösungen im



**Abbildung 2.** A) Entwicklung der Löslichkeit von ACC,  $K_{sp}(\text{ACC})$ , bestimmt durch direktes Mischen der Eduktlösungen und potentiometrische Messungen als Funktion der anfänglichen Konzentrationen der Calcium- und Carbonatlösungen. Der deutliche Sprung zeigt den Eintritt in den flüssig-flüssig spinodalen Bereich. B) Zeitliche Entwicklung der Carbonat-Schwingungsmoden ( $\nu_1$ ,  $\nu_2$ ,  $\nu_3$  mit Kombinationsbande) und der OH-Deformationsmode ( $\nu_{\text{O-H}}$ ) nach dem Mischen von  $\text{CaCl}_2$ - und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösungen (jeweils 0.3 M) mit einem 1:1 Volumenverhältnis. Die Wassermode wird mit der Zeit negativ, da sich gebildetes Calciumcarbonat auf dem Reflektionselement der ATR-Zelle ablagert, wodurch Wassermoleküle ersetzt werden. C) Abhängigkeit der Zeitkonstanten (bestimmt für die Kinetik der Calciumcarbonatbildung mittels der zeitlichen Entwicklung der  $\nu_2$  „out-of-plane“ Carbonatbande, Abbildung S5) von den anfänglichen Calcium- und Carbonatkonzentrationen vor dem Mischen. Der minimale Wert für die erhaltene Zeitkonstante bei einer anfänglichen Konzentration von 0.1 M zeigt, dass die Reaktionskinetik an diesem Punkt am schnellsten wird, wie für die spinodale Grenze erwartet. In der Tat entspricht dieser Punkt innerhalb der experimentellen Genauigkeit der flüssig-flüssig spinodalen Grenze, welche in den potentiometrischen Titrations bestimmt wurde (vgl. A).

oberen 100 mm Bereich erhalten wird, welches einen allgemein akzeptierten Literaturwert darstellt.<sup>[25,35]</sup> Der Mechanismus der Bildung von ACC durch Dehydrierung von dichten flüssigen Vorstufen erklärt daher sich unterscheidende Literaturwerte der Löslichkeiten von ACCs zwischen den binodalen und spinodalen Grenzen, die hier beschrieben sind (Tabellen S1 und S3).

Um unabhängig die Lage der spinodalen Grenze, welche aus den potentiometrischen Daten bei direktem Mischen erhalten wurde, zu validieren, haben wir eine kinetische Untersuchung mittels ATR-FTIR-Spektroskopie durchgeführt.<sup>[40,41]</sup> Die Daten zeigen die Entwicklung der charakteristischen Schwingungsbanden von Carbonat sowie Wasser (Abbildung 2B) nach dem Mischen. Abhängig von den Konzentrationen der Lösungen vor dem Mischen zeigen die Zeittransienten der normalisierten  $\nu_2$  Schwingungsbande von Carbonat eine eindeutige Kinetik in Richtung eines Plateaus (Abbildung S6), die mit einem allgemeinen Modell angepasst wurde. Die so erhaltenen Zeitkonstanten zeigen ein Minimum bei einem IAP, das ebenfalls in den potentiometrischen Messungen als die spinodale Grenze ermittelt wurde (Abbildung 2A). Dies ist vollständig konsistent, da die Barriere der Phasenseparation an der spinodalen Grenze verschwindet und die Kinetik der Bildung von Calciumcarbonat am schnellsten erwartet wird. Die nach dem Überschreiten der spinodalen Grenze schrittweise abnehmende Kinetik ist dann vermutlich durch die zunehmenden Viskositäten der gebildeten, gelartigen Niederschläge in dieser Region des Phasendiagramms zu erklären (sichtbar durch das Verschwinden des ausgeprägten Strudels des Rührers nachdem die Calcium- und Carbonatlösungen gemischt wurden und dem erneuten, allmählichem Bilden dieses Strudels bei fortschreitender Fällung, Film S1).

Wie ausführlich in der unterstützenden Diskussion 3 (Hintergrundinformationen) hergeleitet, kann die spinodale Grenze basierend auf der Thermodynamik der Ionenassoziation ausgehend vom PNC-Modell quantitativ vorhergesagt werden. Im Einzelnen bestimmt die makroskopisch zugängliche Ionenassoziiierungskonstante  $K(\text{Cluster})$  das IAP der spinodalen Grenze, IAP(Spinodale), gemäß;

$$\text{IAP}(\text{Spinodale}) = [K(\text{Cluster})]^{-2} \quad (1)$$

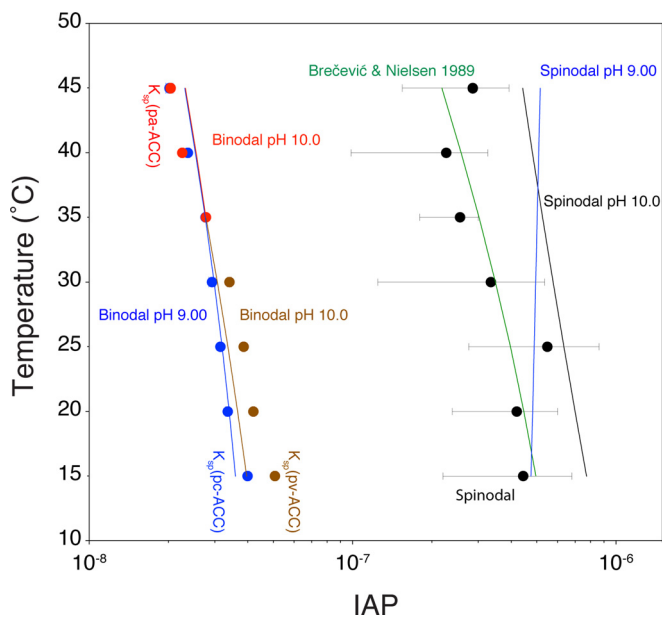
Andererseits erlaubt uns eine Abwägung der Wahrscheinlichkeiten für die Flüssig-flüssig-Entmischung gegenüber der direkten Bildung von kristallinen Polymorphen (unterstützende Diskussion 3) zu vermuten, dass die entsprechende binodale Grenze IAP(Binodale) folgendermaßen zugänglich ist;

$$\text{IAP}(\text{Binodale}) = A(\text{Polymorph}) K_{sp}(\text{Polymorph}) \ln K(\text{Cluster}) \quad (2)$$

wobei  $A(\text{Polymorph})$  eine Konstante und  $K_{sp}(\text{Polymorph})$  die Löslichkeit der verschiedenen Polymorphe Calcit, Aragonit und Vaterit beschreibt. Mit den Werten für  $K_{sp}(\text{Polymorph})$  und deren Temperaturabhängigkeiten aus der Literatur<sup>[42]</sup> sowie der pH- und Temperaturabhängigkeit von  $K(\text{Cluster})$  (Tabelle S2) lassen sich die theoretischen spinodalen und binodalen Kurven berechnen. Zu diesem Zweck wurden zu-

nächst  $A(\text{Calcit}) = 1.33$ ,  $A(\text{Aragonit}) = 0.98$  und  $A(\text{Vaterit}) = 0.39$  [Gl. (2)] bestimmt, indem die experimentell ermittelten IAP Werte bei 35 °C eingesetzt wurden, bei denen experimentell beobachtet wurde, dass  $K(\text{Cluster})$  unabhängig vom pH-Wert ist.

Die so berechneten theoretischen binodalen und spinodalen Kurven sind in sehr guter Übereinstimmung mit den entsprechenden experimentellen Werten bei pH 9.00 und pH 10.0 (Abbildung 3). Während die experimentelle Unsicherheit bei der spinodalen Grenze zu groß ist, um die flüssig-flüssig Polyamorphie aufzulösen, deckt das Modell diese vollständig ab und reduziert die komplexe, metastabile Flüssig-flüssig-Koexistenz auf die pH- und Temperaturabhängigkeit (Tabelle S2) der Ionenassoziiationskonstante  $K(\text{Cluster})$  und die Löslichkeit der verschiedenen Polymorphe. Das Modell zeigt, dass die thermodynamische Stabilität der PNCs



**Abbildung 3.** Vergleich von gemessenen (Datenpunkte) und theoretischen binodalen und spinodalen Grenzen (Linien), die die Flüssig-flüssig-Mischungslücke des wässrigen Calciumcarbonatsystems bestimmen einschließlich pH-abhängiger flüssig-flüssig amorpher Polymorphie. Blaue und braune Datenpunkte verdeutlichen experimentell bestimmte binodale Grenzen bei pH 9.00 beziehungsweise pH 10.0 unterhalb von 35 °C. Rote Datenpunkte zeigen die experimentell bestimmte binodale Grenze bei pH 10.0 oberhalb von 35 °C und schwarze Datenpunkte zeigen die experimentell bestimmte spinodale Grenze bei pH > 10.0. Die grüne Linie zeigt die Löslichkeit von ACC gemäß Literatur.<sup>[33]</sup> Theoretische binodale und spinodale Grenzen können mit den Gleichungen (2) beziehungsweise (1) (Herleitung: unterstützende Diskussion 3) bestimmt werden, wenn die Standardenthalpien und -entropien aus Tabelle S2 sowie die Temperaturabhängigkeiten der Löslichkeiten der verschiedenen Polymorphe aus der Literatur<sup>[42]</sup> verwendet werden. Die blauen Linien zeigen die theoretischen binodalen und spinodalen Kurven bei pH 9.00, die braunen und roten Linien liefern die theoretische binodale Grenze bei pH 10.0, wobei Proto-Calcit (pc), Proto-Vaterit (pv) und Proto-Aragonit (pa) ACCs jeweils über die verschiedenen Löslichkeit der entsprechenden Polymorphe berücksichtigt werden. Die schwarze Linie gibt die theoretische spinodale Kurve für pH 10.0 wieder, die mit den bei hohem pH-Wert erhaltenen experimentellen Daten verglichen werden sollte. Die blaue Linie rechts ist die theoretische spinodale Grenze bei pH 9.00.

nicht nur quantitativ die Stabilität (und damit die Protostruktur) der phasenseparierten flüssigen dichten Vorstufen bestimmt, sondern auch, zusammen mit der Löslichkeit der kristallinen Formen, die IAP Werte, bei oder über denen Flüssig-flüssig-Phasenseparation auftreten kann (binodale Grenze) oder muss (spinodale Grenze). Zusammen weisen das Modell und die Daten auf die Existenz eines Tripelpunktes von pc-, pv- und pa-strukturierten dichten Flüssigkeiten bei  $\approx 35$  °C, einem IAP von  $\approx 2.78 \times 10^{-8}$  und einem pH-Wert zwischen 9.00 und 10.0 hin (Abbildung 3). Ebenfalls erlaubt das Modell, die kritische Temperatur der Flüssig-flüssig-Mischungslücke zu berechnen (unterstützende Diskussion 3), die deutlich unterhalb 100 K für jedes Polymorph liegt, sprich im experimentell unzugänglichen Bereich für wässrige, flüssige Phasendiagramme. In jedem Fall legt die Thermodynamik der Ionenassoziation (Tabelle S2) im Gegensatz zu anderen Studien<sup>[29]</sup> eine untere kritische Lösungstemperatur fest.

Zusammenfassend stellen wir ein „nicht-klassisches“, quantitatives Modell vor, welches das komplizierte flüssig-flüssig Phasenverhalten im Wesentlichen auf die Thermodynamik der Assoziation der gelösten Bestandteile und die Löslichkeit kristalliner Polymorphe reduziert. Bemerkenswerterweise können entsprechende, experimentell zugängliche Parameter, also  $K(\text{Cluster})$ ,  $K_{sp}(\text{Polymorph})$  und  $A(\text{Polymorph})$ , durch die Gegenwart von Additiven beeinflusst werden,<sup>[43]</sup> wodurch deren Effekte auf LLPS vorhersagbar werden. Ob das Modell vollständige quantitative Vorhersagekraft solcher Additiveffekte auf LLPS liefert oder nicht, muss zukünftig noch erforscht werden. Für additivfreie Szenarien wurde das Modell hier für das lang diskutierte Calciumcarbonatsystem, in dem die „klassischen“ Nukleationsbarrieren beim Eintritt in die Mischungslücke erheblich sind,<sup>[11,44]</sup> gründlich untersucht. Die klassische Nukleationstheorie sollte daher nicht für das wässrige Calciumcarbonatsystem oder wahrscheinlich auch für jedes andere System, bei dem signifikante Selbstassoziation in homogener Phase auftritt, in Betracht gezogen werden. Im Grunde genommen deutet die Übereinstimmung von experimentellen und theoretischen Daten für die spinodalen und binodalen Grenzen (Abbildung 3) stark darauf hin, dass die dem PNC Modell zugrundeliegende fundamentale Annahme (Hintergrundinformationen Abschnitte 1 und 2), dass alle Schritte in der Ionenassoziation zu PNCs als gleich und unabhängig angenommen werden können, tatsächlich erfüllt ist. Unsere Ergebnisse zeigen ebenfalls, dass sich feste ACCs durch die Dehydrierung von flüssigen Vorstufen bilden anstelle von „klassischen“ Nukleationsereignissen innerhalb von dichten flüssigen Tröpfchen, da nur ersteres Modell die Mischungs-raten-abhängige ACC Löslichkeit erklären kann.

Wir weisen darauf hin, dass die Größe und Morphologie der gefällten Feststoffe nicht zwangsläufig widerspiegelt, ob die anfängliche Phasenseparation durch binodale oder spinodale Prozesse stattfand, da die festen ACCs durch sekundäre Prozesse gebildet werden, sprich der Dehydrierung und dem gleichzeitigen Wachsen, der Aggregation und/oder der Verschmelzung der dichten flüssigen Vorstufen. Das Modell sollte allgemein für Systeme anwendbar sein, bei denen die Assoziation der gelösten Spezies durch die Freisetzung von

Hydratationswasser-Molekülen aus monomeren chemischen Bestandteilen getrieben wird,<sup>[45]</sup> wodurch kettenförmige PNCs erhalten werden, deren Struktur als sogenannte DOLLOPs (dynamically-ordered liquid-like oxyanion polymers) bezeichnet wird.<sup>[46]</sup> Das Modell liefert ein grundsätzlich verbessertes, quantitatives Verständnis von LLPS basierend auf thermodynamisch stabilen assoziierten Zuständen, PNCs, die in homogener Lösung als fundamentale Vorstufen der Phasenseparation gebildet werden, was für entsprechende Fragestellungen in der Biologie, anorganischen und organischen Chemie und darüber hinaus relevant sein dürfte.

## Danksagung

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 1214, A2) für die finanzielle Unterstützung. Diese Übersetzung wurde von Maxim Gindele verfasst.

## Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

**Stichwörter:** Calciumcarbonat · Flüssig-flüssig-Phasenseparation · Nichtklassische Nukleation · Phasendiagramm · Pränukleationscluster

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 6155–6159  
*Angew. Chem.* **2020**, *132*, 6212–6217

- [1] A. A. Hyman, C. A. Weber, F. Jülicher, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2014**, *30*, 39–58.
- [2] M. Alenquer, S. Vale-Costa, T. A. Etibor, F. Ferreira, A. L. Sousa, M. J. Amorim, *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 831.
- [3] A. Ianiro, H. Wu, M. M. J. van Rij, M. P. Vena, A. D. A. Keizer, A. C. C. Esteves, R. Tuinier, H. Friedrich, N. A. J. M. Sommerdijk, J. P. Patterson, *Nat. Chem.* **2019**, *11*, 320–328.
- [4] G. N. Greaves, M. C. Wilding, S. Fearn, D. Langstaff, F. Kargl, S. Cox, Q. V. Van, O. Majerus, C. J. Benmore, R. Weber, et al., *Science* **2008**, *322*, 566–570.
- [5] S. Yao, B. Jin, Z. Liu, C. Shao, R. Zhao, X. Wang, R. Tang, *Adv. Mater.* **2017**, *29*, 1605903.
- [6] H. Lowenstam, S. Weiner, *On Biomineralization*, Oxford University Press, New York, **1989**.
- [7] L. B. Gower, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 4551–4627.
- [8] L. B. Gower, D. A. Tirrell, *J. Cryst. Growth* **1998**, *191*, 153–160.
- [9] M. A. Bewernitz, D. Gebauer, J. R. Long, H. Cölfen, L. B. Gower, *Faraday Discuss.* **2012**, *159*, 291–312.
- [10] S. E. Wolf, L. Müller, R. Barrea, C. J. Kampf, J. Leiterer, U. Panne, T. Hoffmann, F. Emmerling, W. Tremel, *Nanoscale* **2011**, *3*, 1158–1165.
- [11] F. Sebastiani, S. L. P. Wolf, B. Born, T. Q. Luong, H. Cölfen, D. Gebauer, M. Havenith, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 490–495; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 504–509.
- [12] R. T. DeVol, C.-Y. Sun, M. A. Marcus, S. N. Coppersmith, S. C. B. Myneni, P. U. P. A. Gilbert, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 13325–13333.
- [13] H. Du, M. Steinacher, C. Borca, T. Huthwelker, A. Murello, F. Stellacci, E. Amstad, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 14289–14299.
- [14] Y. Xu, K. C. H. Tijssen, P. H. H. Bomans, A. Akiva, H. Friedrich, A. P. M. Kentgens, N. A. J. M. Sommerdijk, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 2582.
- [15] J. M. Walker, B. Marzec, F. Nudelman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 11740–11743; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 11902–11905.
- [16] S. Leukel, M. Panthöfer, M. Mondeshki, G. Kieslich, Y. Wu, N. Krautwurst, W. Tremel, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 14638–14646.
- [17] E. Seknazi, S. Kozachkevich, I. Polishchuk, N. Bianco Stein, J. Villanova, J.-P. Suuronen, C. Dejoie, P. Zaslansky, A. Katsman, B. Pokroy, *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 664–669.
- [18] B. Cantaert, Y.-Y. Kim, H. Ludwig, F. Nudelman, N. A. J. M. Sommerdijk, F. C. Meldrum, *Adv. Funct. Mater.* **2012**, *22*, 907–915.
- [19] A. Finmore, P. Cunha, T. Shean, S. Vignolini, S. Guldin, M. Oyen, U. Steiner, *Nat. Commun.* **2012**, *3*, 966–966.
- [20] S. E. Wolf, J. Leiterer, V. Pipich, R. Barrea, F. Emmerling, W. Tremel, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12642–12649.
- [21] F. C. Meldrum, H. Cölfen, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 4332–4432.
- [22] R.-Q. Song, H. Cölfen, *CrystEngComm* **2011**, *13*, 1249–1276.
- [23] C. Ruiz-Agudo, J. Lutz, P. Keckeis, M. King, A. Marx, D. Gebauer, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 12240–12245.
- [24] D. Gebauer, P. Raiteri, J. D. Gale, H. Cölfen, *Am. J. Sci.* **2018**, *318*, 969–988.
- [25] P. J. M. Smeets, A. R. Finney, W. J. E. M. Habraken, F. Nudelman, H. Friedrich, J. Laven, J. J. De Yoreo, P. M. Rodger, N. A. J. M. Sommerdijk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2017**, *114*, E7882–E7890.
- [26] K. Henzler, E. O. Fetisov, M. Galib, M. D. Baer, B. A. Legg, C. Borca, J. M. Xto, S. Pin, J. L. Fulton, G. K. Schenter, et al., *Sci. Adv.* **2018**, *4*, eaao6283-12.
- [27] A. F. Wallace, L. O. Hedges, A. Fernandez-Martinez, P. Raiteri, J. D. Gale, G. A. Waychunas, S. Whitelam, J. F. Banfield, J. J. De Yoreo, *Science* **2013**, *341*, 885–889.
- [28] J. W. Cahn, J. E. Hilliard, *J. Chem. Phys.* **1959**, *31*, 688.
- [29] Z. Zou, W. J. E. M. Habraken, L. Bertinetti, Y. Politi, A. Gal, S. Weiner, L. Addadi, P. Fratzl, *Adv. Mater. Interfaces* **2017**, *4*, 1600076.
- [30] M. Faatz, F. Gröhn, G. Wegner, *Adv. Mater.* **2004**, *16*, 996–1000.
- [31] D. Gebauer, S. E. Wolf, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 4490–4504.
- [32] D. Gebauer, M. Kellermeier, J. D. Gale, L. Bergström, H. Cölfen, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 2348–2371.
- [33] L. Brečević, A. E. Nielsen, *J. Cryst. Growth* **1989**, *98*, 504–510.
- [34] D. Gebauer, A. Völkel, H. Cölfen, *Science* **2008**, *322*, 1819–1822.
- [35] J. H. E. Cartwright, A. G. Checa, J. D. Gale, D. Gebauer, C. I. Sainz-Díaz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 11960–11970; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 12126–12137.
- [36] A. E. S. Van Driessche, N. Van Gerven, P. H. H. Bomans, R. R. M. Joosten, H. Friedrich, D. Gil-Carton, N. A. J. M. Sommerdijk, M. Sleutel, *Nature* **2018**, *556*, 89–94.
- [37] J. J. De Yoreo, *Nat. Mater.* **2013**, *12*, 284–285.
- [38] D. Gebauer, P. N. Gunawidjaja, J. Y. P. Ko, Z. Bacsik, B. Aziz, L. J. Liu, Y. F. Hu, L. Bergström, C.-W. Tai, T.-K. Sham, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 8889–8891; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 9073–9075.
- [39] M. Farhadi-Khouzani, D. M. Chevrier, P. Zhang, N. Hedin, D. Gebauer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 8117–8120; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 8249–8252.
- [40] T. Yushchenko, E. Deuerling, K. Hauser, *Biophys. J.* **2018**, *114*, 1847–1857.
- [41] K. Hauser, C. Krejtschi, R. Huang, L. Wu, T. A. Keiderling, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2984–2992.
- [42] N. L. Plummer, E. Busenberger, *Geochim. Cosmochim. Acta* **1982**, *46*, 1011–1040.
- [43] D. Gebauer, H. Cölfen, A. Verch, M. Antonietti, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 435–439.

- [44] Q. Hu, M. H. Nielsen, C. L. Freeman, L. M. Hamm, J. Tao, J. R. I. Lee, T. Y. J. Han, U. Becker, J. H. Harding, P. M. Dove, et al., *Faraday Discuss.* **2012**, *159*, 509–523.
- [45] M. Kellermeier, P. Raiteri, J. K. Berg, A. Kempster, J. D. Gale, D. Gebauer, *ChemPhysChem* **2016**, *17*, 3535–3541.
- [46] R. Demichelis, P. Raiteri, J. D. Gale, D. Quigley, D. Gebauer, *Nat. Commun.* **2011**, *2*, 590.

Manuskript erhalten: 2. Dezember 2019  
Veränderte Fassung erhalten: 7. Januar 2020  
Akzeptierte Fassung online: 13. Januar 2020  
Endgültige Fassung online: 10. März 2020

---