

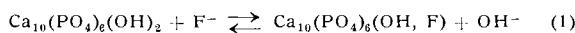
Fluor-Hydroxyl-Substitution am Hydroxylapatit als Ionenaustauschreaktion und ihre Anwendung für die Mikrofluoranalyse

Von Prof. Dr. A. KNAPPWOST*

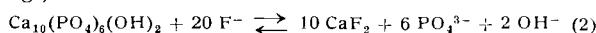
Institut für physikalische Chemie der Universität Tübingen

In Hydroxylapatit kann Hydroxyl weitgehend reversibel gegen Fluor ausgetauscht werden. Er wirkt also als echter Ionenaustauscher. Darauf begründet sich eine Mikroanalysenmethode für Fluor, die grundsätzlich frei von systematischen Fehlern ist.

Das F-Ion wird an Hydroxylapatit im Sinne des Gleichgewichtes



in einer typischen Ionenaustauschreaktion gebunden. Dabei soll die Klammer (OH, F) die Bildung eines Substitutionsmischkristalles wechselnden Substitutionsgrades andeuten. Arbeitet man mit so niedrigen F-Konzentrationen, daß das Löslichkeitsprodukt des CaF_2 nicht überschritten wird, weil sich sonst unter partiellem Zerfall des Hydroxylapatits ein Gleichgewicht der folgenden Form einzustellen pflegt,



so werden die F-Ionen reversibel an den Hydroxylapatit gebunden bzw. davon abgespalten.

Für die Untersuchungen verwendeten wir einen nach *Hayek* und *Stadtmann*¹⁾ bereiteten großoberflächigen Hydroxylapatit, den wir durch wiederholtes Behandeln mit H_2O im Autoklaven bei 140°C zu altern versuchten. Die Benetzungswärme der jeweils vor und nach dieser Behandlung 1 h bei 300°C im Vakuum ($p < 10^{-4}$ Torr) gehaltenen Präparate war allerdings annähernd gleich, etwa 10 cal/g; ein merkliches Kornwachstum war also nicht eingetreten. Eine wesentlich niedrigere Benetzungswärme von etwa 3 cal/g wurde dagegen erhalten, wenn der Apatit mit den gleichen Lösungen in der Siedehitze sehr langsam gefällt wurde.

600 mg des nach *Hayek* und *Stadtmann* bereiteten, also kalt gefällten Hydroxylapatits, der aber, um Gitterfehlstellen zu beheben, im Autoklaven bei 140°C gealtert worden war, wurde in 600 cm^3 einer gesättigten CaF_2 -Lösung fluoriert. Um die F-Konzentration nicht zu extrem absinken zu lassen, wurde ein sauberer großer CaF_2 -Kristall zugegeben. Bei 97°C und Durchleiten eines nicht von CO_2 befreiten Luftstromes wurde in 125 h ein Substitutionsgrad $\frac{\gamma \text{F}}{\gamma \text{OH}}$ von 0,196 (γ = Molenbruch) erhalten. Dieser Substitutionsgrad ist keineswegs der Endwert. Der CaF_2 -Kristall lieferte weniger F-Ionen nach als durch den Hydroxylapatit gebunden wurden, so daß die F-Konzentration in der Lösung doch stark abnahm. In anderen Fällen, wenn die höhere F-Konzentration durch oberflächenreiches CaF_2 aufrecht erhalten wurde, erhielt *Haas*^{1a)} bei 25°C in 18 h an einem in der Siedehitze gefällten und 15 h im Autoklaven bei 170°C in H_2O in Gegenwart von CaCO_3 gealterten, Hydroxylapatit einen Substitutionsgrad von $\frac{\gamma \text{F}}{\gamma \text{OH}} = 0,398$. Sollte sich dieser Befund bestätigen, so wirft er die Frage nach dem Mechanismus dieses Austauschs-

vorganges außerhalb der randnahen Zonen der Hydroxylapatit-Kristalle auf. Dieses Problem soll in einer anderen Arbeit über den F-OH-Austausch bei verschiedenen Kristallgrößen behandelt werden.

Die F-Ionen müßten nun, falls Hydroxylapatit ein typischer Ionenaustauscher ist, gemäß Reaktion (1) wieder aus dem Fluorhydroxylapatit austreibbar sein. Wenn Fluorhydroxylapatit mit 10proz. NaOH 48 h bei 97° behandelt wurde, um die Rückreaktion zu erzwingen, erniedrigte sich tatsächlich der Substitutionsgrad $\frac{\gamma \text{F}}{\gamma \text{OH}}$ von 0,196 auf 0,024, also auf 12% des Ausgangswertes. Schon früher war an Apatit-haltigem Calciumphosphat die Regenerationsmöglichkeit gezeigt worden²⁾. Uns kam es darauf an, die Rückreaktion an reinem Apatit nachzuweisen. Die Bindung der Fluor-Ionen an Hydroxylapatit ist also p_{H} -abhängig. Die Fluorierungsgeschwindigkeit von Hydroxylapatit bei verschiedenem p_{H} , und zwar unterhalb der durch Reaktion (2) bzw. durch das Löslichkeitsprodukt des CaF_2 gekennzeichneten Grenzkonzentration ergab, daß schon bei p_{H} -Werten > 8 die Anfangsfluorierungsgeschwindigkeit merklich abfällt.

Diese Tatsachen sind für die Makro- wie insbes. für die Mikroanalyse des Fluors zu beachten. Letztere ist einerseits in der Anthropologie und Geologie für Altersbestimmungen von Knochen³⁾, andererseits seit der Entdeckung der kariesprophylaktischen Wirkung der F-Ionen⁴⁾ für Gehalts- und Resorptionsuntersuchungen besonders wichtig geworden, aber sie ist trotz neu entwickelter Verfahren noch verbessungsfähig.

Da bei der Bestimmung des Fluors nach *de Boer* durch Titration mit Zirkon- oder Thoriumnitrat und Natriumalizarinsulfonat als Farblackindikator auf freie Zirkon- bzw. Thorium-Ionen viele Begleitstoffe wie SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , auch höhere Cl^- -Gehalte stören, wurden diese Stoffe bisher durch Ag_2SO_4 , BaCl_2 usw. individuell entfernt^{5, 6)}. Abgesehen davon, daß durch solche Absorptionsmittel auch ein Teil der F-Ionen absorbiert wird, treten die störenden Begleitstoffe bei der durchweg notwendigen Destillation des Fluors als H_2SiF_6 ebenfalls z.T. in das Destillat über. Deshalb ist es sinnvoll, nicht die große Zahl der störenden und nicht immer bekannten Begleitstoffe, die Fluor vortäuschen, individuell zu entfernen, sondern die F-Ionen zu binden und zwar an Hydroxylapatit und diesen zu analysieren. Dieses Verfahren hat sich bei uns in vielen Untersuchungen seit 1950 sehr gut bewährt. *Gericke* und

²⁾ W. H. Mac Intire u. J. W. Hammond, Ind. Engng. Chem. 30, 160 [1938].

³⁾ M. F. A. Montagu u. K. P. Oakley, Amer. J. Phys. Anthropology, 363 [1949].

⁴⁾ A. Knappwost, Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem. 55, 586 [1951].

⁵⁾ Th. v. Fellenberg, Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. Vol. XXVIII, 150 [1937].

⁶⁾ A. M. Bond u. M. M. Murray, Biochem. J. 53, 642 [1953].

* Herrn Professor Dr. Dr. h. c. Wilhelm Klemm zum 60. Geburtstage.
1) E. Hayek u. W. Stadtmann, diese Ztschr. 67, 326 [1955].

^{1a)} F. Haas, unveröffentl.

Kurmies⁷⁾ haben ebenfalls eine Eliminierung des Fluors durch Fluor-freies Tricalciumphosphat, das Hydroxylapatit enthält, vorgeschlagen. Da aber praktisch keine Fluor-freien Substanzen existieren — insbes. enthalten die Phosphate oft Fluor-Mengen, die kommensurabel mit denen sind, die mikroanalytisch gefaßt werden sollen — ist es zweckmäßig, den Versuch einer sog. Absolutbestimmung, wie sie wohl zuerst von v. Fellenberg^{5, 8)} angegeben und abgeändert später noch mehrfach mitgeteilt wurde, aufzugeben und statt der hoffnungslosen Suche nach Fluor-freien Reagenzien und Aufschlußmitteln bzw. der mühevollen Entfernung des Fluors aus diesen Stoffen diese bei der Eichung der Apparatur mit bekannten F-Mengen mit einzubeziehen. So ist das folgende Verfahren entstanden, das relativ einfach und aus den oben dargelegten Gründen prinzipiell frei von systematischen Fehlern ist.

Bindung der Fluor-Ionen an Hydroxylapatit

Die wichtigste Operation bei jeder Mikrofluoranalyse ist die Entfernung des Fluors aus den Probelösungen. Wir binden zunächst das Fluor an Hydroxylapatit.

Dazu wird ein bestimmtes Volumen (meistens etwa 100 cm³) der zu untersuchenden Lösung, das bis zu 250 γ Fluor enthalten kann, mit 200 mg Hydroxylapatit bei pH 6,8 bis pH 7,2 gekocht. Als Hydroxylapatit eignet sich sehr gut das oberflächenreiche Material, das nach Hayek und Stadtmann leicht in ausreichenden Mengen als Vorrat herstellbar ist. Die Alterung mit H₂O bei 140 °C ist in den meisten Fällen überflüssig. Nach 20 min Kochzeit findet man praktisch das gesamte Fluor im Hydroxylapatit wieder. Obgleich es nicht notwendig ist, das gesamte Fluor an den Hydroxylapatit zu binden und man auch mit 3 min Kochzeit auskäme, sofern man nur bei Eichung und Messung die gleiche Kochzeit einhält, ist es günstig, die Kochzeit auf 20 min zu normen, weil die Reaktionsgeschwindigkeit dann asymptotisch gegen Null geht und der Anteil der an den Hydroxylapatit gebundenen Fluor-Menge unempfindlich gegen merkliche Schwankungen der Kochzeit wird. Der Hydroxylapatit wird auf einem nicht aschefreien Filter gesammelt. Das Filter wird vorher mindestens fünfmal mit heißer etwa 1n H₂SO₄ gespült, weil fast alle Filter, insbes. aber die aschefreien Filter oft erhebliche und schwankende Mengen Fluor enthalten. Der fluor-haltige Hydroxylapatit (Fluorhydroxylapatit) wird nun durch wiederholtes Übergießen mit 40 cm³ einer etwa 1n H₂SO₄ aufgenommen und das Filtrat mit weiteren 10 cm³ 1n H₂SO₄, die zum Spülen des Filters dienen, auf 50 cm³ ergänzt. Diese Menge wird für 5 Destillationen in 5 gleiche Teile geteilt.

Destillation des F als H₂SiF₆ aus einer H₂SO₄-H₂O-Mischung

Die geeignete Destillationsapparatur zeigt Bild 1. Wichtig ist ein Kjeldahl-Kolben von etwa 50 cm³ Inhalt mit möglichst langem Hals, um den Übergang von Tröpfchen in das Destillat zu unterbinden. So läßt sich eine H₂SO₄-H₂O-Mischung statt der üblich gewordenen Überchlorsäure als Aufschluß- und Siedeflüssigkeit verwenden.

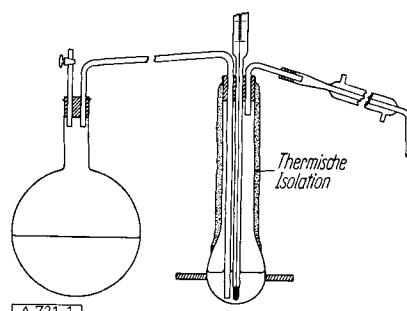


Bild 1

Destillationsapparatur zur Abtrennung des F als H₂SiF₆ aus einer H₂SO₄-H₂O-Mischung. Der Hals des Kjeldahl-Kolbens soll mindestens 25 cm lang sein, um die Sedimentation von H₂SO₄-H₂O-Tröpfchen zu ermöglichen.

⁷⁾ S. Gericke u. B. Kurmies, Z. analyt. Chem. 132, 335 [1951].

⁸⁾ Th. v. Fellenberg, Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. [Bern], Vol. 42, 158 [1951].

Der Kjeldahl-Kolben enthält insgesamt etwa 21 cm³ Flüssigkeit, neben 10 cm³ der Fluor-haltigen 1n H₂SO₄, 2 cm³ H₂O und 9 cm³ konzentrierte H₂SO₄ (Dichte 1,84 g/cm³), ferner etwa 100 mg Quarzmehl und einige Bimssteinstückchen. Beide Substanzen müssen durch Auskochen in konzentrierter H₂SO₄ von Fluor befreit worden sein. Durch einen gut anliegenden Asbestring wird Überhitzung oberhalb des Meniskus und damit ein Übertritt störender H₂SO₄-Nebel in das Destillat vermieden. Die Mischung im Kjeldahl-Kolben beginnt bei etwa 125 °C zu sieden. Von da ab wird der Wassergehalt und damit die Siedetemperatur durch Einleiten von H₂O-Dampf aus dem Rundkolben konstant gehalten. Dann muß die Heizung des Kjeldahl-Kolbens so gedrosselt werden, daß sie nur noch dessen Wärmeverluste durch Leitung, Konvektion und Strahlung kompensiert. Kontrolle: Konstanz der Siedetemperatur. Die Destillationsgeschwindigkeit wird dann nur noch durch den Dampfstrom aus dem Rundkolben bestimmt. Sie wird ebenso wie alle anderen Größen bei diesem Verfahren normiert und zwar so, daß genau 30 cm³ Destillat in etwa 15 min aufgefangen werden. Die Normierung nicht nur des Destillationsvolumens, sondern möglichst auch der Zeit wird am besten durch eine regelbare elektrische Heizung erreicht. Die nach den 5 Destillationen in 5 mal 30 cm³ Destillat gefundene F-Menge m_{2F} liegt als H₂SiF₆ vor und kann nach irgend einem der bekannten Verfahren z. B. kolorimetrisch oder titrimetrisch mittels Thoriumnitrat und Natriumalizarinsulfonat als Farblackindikator bestimmt werden.

Die gefundene F-Menge m_{2F} ist im allgemeinen etwas niedriger, obgleich sie im Prinzip bei höheren Fluor-Gehalten des Hydroxylapatits oder der H₂SO₄ auch größer sein könnte als die in der zu analysierenden Lösung vorliegende F-Menge m_{OF}. Sie ist dieser aber streng proportional.

$$m_{2F} = \text{prop} \cdot m_{OF} \quad (3)$$

Diese Behauptung gründet sich auf der Überlegung, daß für eine Isotherme in dem quasibinären System ($\gamma_{H_2SO_4} = \text{const.}$) die Aktivität des H₂SiF₆ für die kleinen hier vorkommenden Molenbrüche diesen auch dann hinreichend streng proportional ist, wenn die Aktivitätsisotherme der H₂SiF₆ einen komplizierten Verlauf zeigen sollte. Dann ist die pro Fraktionselement dv übergehende F-Menge dm_F der jeweiligen noch im Kjeldahl-Kolben vorhandenen F-Menge m_F proportional,

$$-dm_F = \alpha m_F \cdot dv \quad (4)$$

wobei die Konstante α durch die Höhe der Siedetemperatur gegeben ist, auf deren Konstanthaltung während der Destillation es also entscheidend ankommt. Die nach dem Vorliegen einer Fraktion v noch im Kjeldahl-Kolben befindliche F-Menge ist dann

$$m_{1F} = m_{OF} \cdot e^{-\alpha v} \quad (5)$$

und die in das Destillat übergegangene F-Menge

$$m_{2F} = m_{OF} (1 - e^{-\alpha v}) \quad (6)$$

Ihre Summe

$$m_{1F} + m_{2F} = m_{OF}$$

ist also gleich der F-Anfangsmenge m_{OF}. Für konstantes Fraktionsvolumen v = 30 cm³ ergibt sich demnach die im Destillat auftretende F-Menge m_{2F} als der vorliegenden Anfangsmenge m_{OF} proportional.

$$m_{2F} = (1 - e^{-\alpha v}) m_{OF} = \text{const. } m_{OF} \quad (7)$$

Die Titration

Die H₂SiF₆ im Destillat kann auf verschiedene Weise bestimmt werden. Wir haben bisher meist nach der etwas abgeänderten Vorschrift von v. Fellenberg^{5, 8)} gearbeitet.

Man titriert 10 cm³ des zu untersuchenden Destillats mit Thoriumnitrat-Lösung in kalibrierten Reagenzgläsern (Mikropipette) gegen eine Vergleichslösung. Als Hilfsmittel dient ein einfacher Blockkomparator, bei dem die Reagenzgläser zur Verhinderung des radialen Lichteintrittes in zwei, etwa 70 mm voneinander entfernten Bohrungen eines Holzblocks stecken. Man beobachtet in achsialer Richtung gegen eine gleichmäßig ausgeleuchtete Milchglasplatte oder weiße Papierwand.

Lösungen: $\sim 0,01\text{ n}$ Thoriumnitrat-Lösung: 1,74 g kristallisiertes Thoriumnitrat, 1000 cm³ H₂O. Natriumalizarinsulfonat-Lösung: 0,05 proz. wäßrige Lösung; $\sim 0,25\text{ n}$ HCl; $\sim 0,1\text{ n}$ NaOH.

Vergleichsprüfung: Man gibt in mindestens 3 Reagenzgläser je 10 cm³ H₂O, 0,1 cm³ Natriumalizarinsulfonat-Lösung, 0,05 cm³ NaOH-Lösung, 0,15 cm³ HCl-Lösung und 0,01 cm³ Thoriumnitrat-Lösung, vergleicht sie im Komparator untereinander und wählt diejenige mit dem mittleren Farbton als Vergleichsprüfung. Die Vergleichsprüfung wird täglich neu hergestellt.

Zu analysierende Probe: Zu einer Mischung von 10 cm³ des H₂SiF₆-haltigen Destillats, 0,1 cm³ Natriumalizarinsulfonat-Lösung, 0,05 cm³ 0,1 n NaOH, 0,15 cm³ 0,25 n HCl, wird mit einer 0,1 cm³ fassenden Mikropipette Thoriumnitrat-Lösung bis zur Farbgleichheit mit der Vergleichsprüfung gefügt.

Eichkurve und Genauigkeit

Bild 2 gibt die mit bekannten F-Mengen, die den Analysengang unter den normierten Bedingungen durchlaufen haben, erhaltene Eichkurve zwischen Thoriumnitrat-Verbrauch und F-Gehalt wieder. Der positive Ordinatenab-

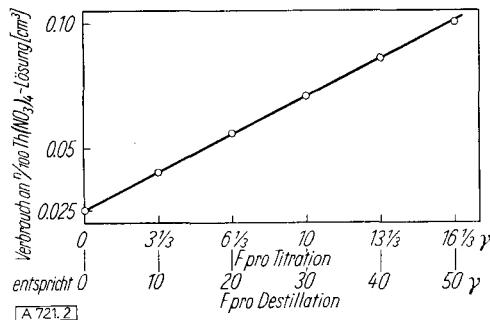


Bild 2

Eichkurve zwischen Thoriumnitrat-Verbrauch und bekannten F-Mengen, die den Analysenprozeß unter den normierten Bedingungen durchlaufen haben. Der Ordinatenabschnitt ist durch den Eigenfluorgehalt des Hydroxylapatits und des Aufschlußmittels gegeben, der bei diesem Verfahren in die Eichung einbezogen wird.

schnitt ist im wesentlichen durch den Eigenfluorgehalt des Hydroxylapatits und den der Schwefelsäure bestimmt. Die strenge Linearität, die bis zu F-Gehalten von 100 γ pro Destillation verfolgt wurde, beweist, daß Gleichung (7) gültig ist und damit der theoretische Ansatz, der zu ihr führt. Sie erlaubt es ferner grundsätzlich, die Eichkurve aus zwei Eichpunkten aufzustellen, einmal mit dem Nullwert (ohne zusätzliche F-Mengen beladener Hydroxylapatit), das andere Mal mit einer bekannten F-Menge von etwa 50 γ. Die Punkte in Bild 2 sind die Mittelwerte aus 4 Einzelmessungen. Eine Statistik über eine größere Zahl von Einzelmessungen ergab einen nahezu gleichen absoluten Betrag des nach der Methode der kleinsten Quadrate berechneten mittleren Fehlers der Einzelmessung m über den ganzen Bereich der Eichkurve. Von sorgfältig arbeitenden Beobachtern wurde im Mittel der Wert $m = \pm 0,85\gamma F$ erreicht. Die Streuung bei den Titrationen ist zu vernachlässigen, dagegen streuen die Meßwerte zwischen den einzelnen Destillationen etwas stärker. Konstante Siedetemperatur durch richtiges und schnell nachregulierbares Einstellen des Dampfstromes, sowie möglichst träge Regulierbarkeit der Wärmeverlustkompensation am Kjeldahl-Kolben reduzieren m merklich. Bei 50 γ F pro Destillation, ein Bereich, der wegen des konstanten Absolutbetrages von m angestrebt werden sollte, ergibt sich der relative mittlere Fehler der Einzelmessung mit dem oben angegebenen Wert von m zu $\pm 1,7\%$. Bei 5 Destillationen ($n = 5$) wird

$$M = \frac{m}{\sqrt{n}}$$

also der mittlere Fehler des Mittels $M = \pm 0,8\%$. Von systematischen Fehlern ist das natürlich auch noch kleineren F-Mengen anpaßbare Verfahren offensichtlich frei.

Eingegangen am 20. Februar 1956 [A 721]

Heißchromatographie

Chromatographie mit siedenden Lösungsmitteln

Von Priv.-Doz. Dr. RICHARD MEIER und Dipl.-Chem. J. FLETSCHINGER

Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität Freiburg/Br.

Es wird eine Methode beschrieben, die es gestattet, bei Siedetemperatur der Lösungsmittel zu chromatographieren. Sie eignet sich vor allem für schwerlösliche Verbindungen wie annellierte Kohlenwasserstoffe. Die Brauchbarkeit des Verfahrens wird an der Trennung von Anthracen und Anthrachinon in siedendem Toluol an Aluminiumoxyd gezeigt.

Die Chromatographie schwerlöslicher Verbindungen, z. B. höher annellierte Kohlenwasserstoffe, macht erhebliche Schwierigkeiten. Zur vollständigen Auflösung, die ja für die Chromatographie notwendig ist, werden große Lösungsmittelmengen benötigt, wodurch nicht nur die Chromatographie sehr lange dauert, sondern auch die Trennschärfe infolge der großen Verdünnung leidet. Um aus konzentrierteren Lösungen chromatographieren zu können, ist es notwendig, die Temperatur zu erhöhen, da hierdurch die Löslichkeit gerade bei Kohlenwasserstoffen sehr stark ansteigt. Es ist jedoch erforderlich, Säule und Vorratsgefäß auf genau gleicher Temperatur zu halten¹). Dadurch wird das Verfahren aber umständlich und kompliziert. Man kann diese Nachteile umgehen, indem man mit siedendem Lösungsmittel chromatographiert und das Rohr durch den aufsteigenden Dampf auf konstanter Temperatur hält.

Das Chromatographierohr (A) befindet sich in einem 1–2 cm weiteren Mantelrohr (B), das unten mit einem Normalschliff für den Lösungsmittelkolben versehen ist. Zur besseren Isolierung wird das äußere Rohr mit einer Filzschicht beklebt und ein etwa 1 cm breiter Längsschlitz zur Beobachtung frei gelassen. Die Säule sitzt auf drei Glaszapfen (C) in der Verengung des Mantels auf und wird oben entsprechend senkrecht gehalten. Am Kopf befindet sich ein kleiner Einhängekühler (F), der in einem Kork verschiebbar angebracht ist, so daß sein unteres Ende jeweils mit der Oberkante des Chromatographierohres abschließt. Am unteren Schliff wird der Kolben (H) mit dem Lösungsmittelvorrat angebracht. Da das System völlig geschlossen ist, läßt sich sehr leicht unter Schutzgas arbeiten. Das Lösungsmittel zirkuliert, so daß nur geringe Mengen benötigt werden; dies ist für das spätere Aufarbeiten von großem Vorteil. Der Lösungsmittelvorrat muß erst gewechselt werden, wenn eine neue Zone im Durchlauf erscheint. Die Substanz wird in festem Zustand auf den

¹⁾ G. Schramm u. J. Primosigh, Ber. dtsch. chem. Ges. 76, 373 [1943].