

# Zur Bildungsweise und Morphologie der schwerlöslichen Calciumphosphate

Von

E. Hayek, H. Newesely, W. Hassenteufel und B. Krismer

Aus dem Institut für Anorganische und Analytische Chemie  
der Universität Innsbruck

Mit 9 Abbildungen

(Eingegangen am 30. Januar 1960)

Als schwerlösliches Calciumphosphat tritt im annähernd neutralen wäßrigen System nicht nur Hydroxylapatit (HA), sondern auch  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  auf, welches in der Literatur schon mehrfach als „Oktocalciumphosphat“ (OCP) beschrieben wurde, über dessen Existenz und Eigenschaften jedoch keine Klarheit herrscht. Es zeigt ein apatitähnliches *Debye*-Diagramm, in welchem charakteristische Linienkombinationen auftreten, die seine Unterscheidung von HA gut ermöglichen. Auf diese Weise ergibt sich, daß das erste Fällungsprodukt von Calcium- und Phosphat-Ionen im wesentlichen OCP ist, wenn nicht hohe pH-Werte oder erhöhte Temperatur die HA-Bildung begünstigen.

Morphologisch unterscheidet sich OCP, welches auch rein kristallin dargestellt werden kann, durch Bildung blättchenartiger Formen vom HA, der bevorzugt Prismen oder Nadeln bildet. Auch Leitfähigkeits- und pH-Titrationen sprechen eindeutig für die Existenz von OCP. Seine Kenntnis trägt wesentlich zur Klärung der Zusammensetzung gewöhnlicher Calciumphosphatfällungen in bezug auf das Ca/P-Verhältnis und den Wassergehalt bei. Es ist ferner von Bedeutung für die Wahl einer Modellstruktur der Mineralsubstanz der Knochen.

Trotz der großen biologischen Bedeutung der Calciumphosphate sind grundlegende Fragen ihrer Bildung und Form noch nicht ausreichend geklärt. Der röntgenographische Nachweis der Apatitstruktur der Mineralsubstanz der Knochen<sup>1</sup> und Zähne<sup>2</sup> erfolgte einige Jahre vor der Fest-

<sup>1</sup> W. F. de Jong, Rec. trav. chim. Pays-Bas **45**, 445 (1926).

<sup>2</sup> R. Gross, Festschr. Zahnärztl. Inst. Greifswald 1926, 59.

stellung, daß auch die durch Fällung im wäßrigen System erhaltenen, amorph erscheinenden schwerlöslichen Calciumphosphate diese Struktur zeigen<sup>3</sup> und daher der Idealformel  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  entsprechen sollten. Sie weisen aber meist eher die Zusammensetzung des Tricalciumphosphates  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  auf. Diese Verbindung ist in reinem Zustand, mit eigener vom Apatit gänzlich verschiedener Röntgenstruktur, auf trockenem Weg bei höheren Temperaturen zu erhalten, durch Fällung in wäßriger Lösung aber nur in Gegenwart gewisser Fremdionen, insbesondere des Magnesiumions<sup>4</sup>. Sie bilden Keime, an welchen sich das  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  abscheidet; so ist seine Bildung im Zahnstein zu erklären<sup>5</sup>. Im wäßrigen, auch im biologischen System ist aber außer diesen Verbindungen die Entstehung noch eines weiteren schwerlöslichen Calciumphosphates, nämlich des bisher zu wenig untersuchten „Oktophosphates“  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3$  zu berücksichtigen. Über dieses wird hier ausführlicher berichtet.

In enger Verbindung mit der Existenz mehrerer schwerlöslicher Calciumphosphate steht die Frage nach der Form der Primärteilchen der biologischen Mineralsubstanz, speziell der Knochen, von welcher zwar die Größe zwischen 50 und 500 Å festliegt, aber die Gestalt keineswegs sichergestellt ist<sup>6</sup>. Die Präparierung aus dem Gewebe ohne Veränderung der äußeren Form ist schwierig, die angewandten Methoden sind z. T. anfechtbar und die elektronenoptischen Bilder lassen verschiedene Deutung zu. Im folgenden soll daher auch die Frage behandelt werden, welche Teilchenformen auf Grund der Erfahrungen an synthetischen Produkten wahrscheinlich sind und deshalb auch bei Modellvorstellungen über Struktur und Calcification zu berücksichtigen wären.

Die mineralischen Vorkommen des Apatites  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})$  sind in der Regel hexagonale Säulen, seltener in der Richtung der *c*-Achse zu dicken Tafeln verkürzt. Solch ausgeprägter Habitus wird aber bei einfacher Ausfällung nicht erreicht, nur unter Einhaltung extremer Bedingungen, Reaktionsweise oder Temperatur betreffend, können morphologisch charakterisierte Apatitkristalle hergestellt werden. Reinstes Hydroxylapatit aus Lösung, frei von anderen Ionen, in Form länglicher Einzelkristalle, der Größe von 2  $\mu$ , später bis 10  $\mu$ , wurde von uns<sup>7</sup> durch oft wiederholtes Auskochen amorpher Fällungsprodukte mit reinem Wasser erhalten. Wir vermuteten damals, daß die Nadeln verschiedene Breite und Dicke aufweisen. Inzwischen konnten wir jedoch durch beschattete elektronenoptische Aufnahmen eindeutig feststellen, daß die beiden

<sup>3</sup> A. Schleede, W. Schmidt, H. Kindt, Z. Elektrochem. **38**, 633 (1932); G. Trömel, H. Möller, Z. anorg. allg. Chem. **206**, 227 (1932).

<sup>4</sup> O. R. Trautz, J. Dent. Res. **33**, 687 (1954), vgl. ferner E. Hayek und H. Newesely, Mh. Chem. **89**, 88 (1958).

<sup>5</sup> A. T. Jensen und S. L. Rowles, Nature [London] **179**, 912 (1957).

<sup>6</sup> Übersicht bei D. Carlström, Acta Radiol., Suppl. 121 (1955).

<sup>7</sup> E. Hayek, F. Müllner und K. Koller, Mh. Chem. **82**, 959 (1951).

Dimensionen gleich sind und es sich um hexagonale Prismen handelt, welche z. T. pyramidenförmig enden (Abb. 1. Au-Pd-Beschattung,  $\alpha = 31^\circ$ ).

Das gleiche Bild zeigen die mikroskopischen, bis 2 mm langen Hydroxylapatitkristalle, die auf hydrothermale Weg hergestellt wurden<sup>8</sup>, und zwar sowohl in stark alkalischem Medium, als durch Hydrolyse von  $\text{CaHPO}_4$  bei einem resultierenden pH-Wert herab bis 4,6, gemessen bei  $20^\circ$  (Abb. 2).

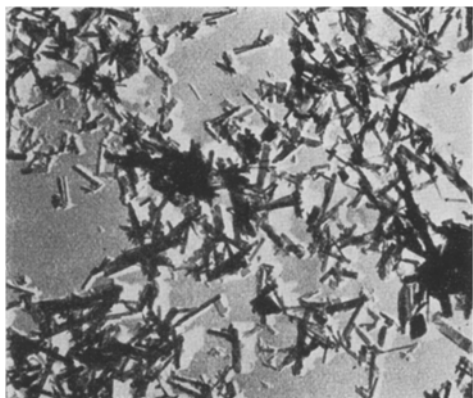


Abb. 1. Hydroxylapatit, Auskochochprodukt 8700:1

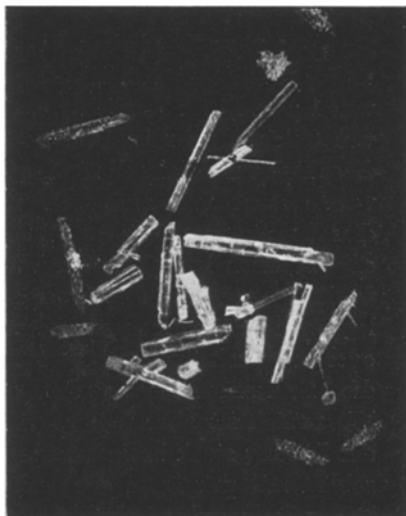


Abb. 2. Hydroxylapatit, hydrothermal 12:1

Ein kleiner Na-Gehalt (0,5%) der in Gegenwart von NaOH erhaltenen Kristalle kann, entsprechend dem Ersatz von  $\text{Ca}^{2+}$  durch  $\text{Na}^+$ , Leerstellen der  $\text{OH}^-$ -Plätze zur Folge haben. Auch die von Rathje<sup>9</sup> hergestellten, kristallinen, drusenförmig verwachsenen Hydroxylapatitpräparate lassen nadelförmigen Charakter erkennen.

Wir haben ferner eine Methode zur Fällung von reinem Hydroxylapatit angegeben<sup>10</sup>, welche auf dem Vermengen stark ammoniakalischer Lösungen von Calciumnitrat und von Ammonphosphat beruht, wodurch eine Mitfällung von  $\text{HPO}_4^{2-}$  vermieden wird. Das feinteilige Produkt, welches durch Erhitzen auf  $250^\circ$  rein von Ammonnitrat erhalten wird, zeigt sich im elektronenoptischen Bild ebenfalls in prismatischer Form mit Pyramidenenden, wenn auch nur in der Größenordnung von etwa 50  $\mu$  Länge und 10  $\mu$  Dicke.

Es weisen somit alle auf verschiedene Weise erhaltenen Hydroxylapatitkristalle prismatischen Charakter auf, sie sind nur unter beson-

<sup>8</sup> E. Hayek, J. Lechleitner und W. Böhler, Angew. Chem. **67**, 326 (1955); Z. anorg. allgem. Chem. **295**, 241 (1958).

<sup>9</sup> W. Rathje, Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 342 (1941).

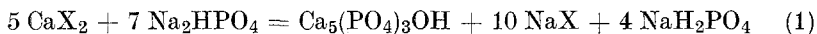
<sup>10</sup> E. Hayek und W. Stadlmann, Angew. Chem. **67**, 327 (1955).

deren Bedingungen deutlich kristallin zu erhalten. Es blieb genauer zu prüfen, welche Calciumphosphate unter milden Bedingungen einer Fällung bei normaler oder wenig erhöhter Temperatur sich bilden und welche Ausbildungsformen sich so zeigen, auch um Anhaltspunkte für die biologischen Formen zu bekommen.

### I. pH-Messungen zur Verfolgung der Calcium-phosphat-Fällung

Vor einiger Zeit haben *Watson* und *Robinson*<sup>11</sup> über solche Messungen und die Bildung von Hydroxylapatitkristallen, in der Größenordnung von  $1\ \mu$  in Form länglicher, sechseckiger Tafeln, durch einfache Fällung von Calciumsalz mit Natriumphosphat bei  $20^\circ$  berichtet. Sie benützen diese Formen als Modell für das Knochenphosphat, und diese Anschauung wurde auch von anderen Autoren<sup>12,13</sup> übernommen. *Carlström*<sup>6</sup> hat dies bereits kritisiert, es schienen jedoch weitere Untersuchungen der offensichtlich komplizierten Verhältnisse erwünscht.

Einige an sich selbstverständliche, aber zu wenig beachtete Überlegungen seien vorausgeschickt. Bei der Fällung von  $\text{Ca}^{2+}$  mit Phosphat oder umgekehrt ist zunächst der pH-Wert der vorgelegten Lösung für die Zusammensetzung des ersten Fällungsproduktes entscheidend. Wesentlich ist aber ferner, daß durch die Fällung selbst der pH-Wert der Lösung stark beeinflußt wird, und zwar stets nach der sauren Seite, sobald mit primärem oder sekundärem Phosphat eine Fällung, welche  $\text{PO}_4^{3-}$ -Ionen oder  $\text{OH}^-$ -Ionen enthält, sich bildet, z. B. nach



Deshalb wird tatsächlich nur ein Teil der Fällung nach dieser Gleichung verlaufen, denn es kann sich z. B. je nach Konzentrationsverhältnissen an die teilweise Fällung des  $\text{Ca}^{2+}$  als Apatit die als  $\text{CaHPO}_4$  anschließen. Jedenfalls wird die Lösung im Reaktionsverlauf zunehmend saurer und dementsprechend ändert sich der Charakter der in ihr vorhandenen und dann eine Fällung bildenden Phosphationen.

Wir wiederholten zunächst die Versuche von *Watson* und *Robinson* bei  $20^\circ$  und arbeiteten auch bei  $25^\circ$  und  $37^\circ$ . Es wurden Calcium- und Phosphatlösungen im Thermostaten vermengt und die pH-Änderungen nach dem völligen Vermischen mit einer Glaselektrode verfolgt. Die Ansätze wurden wie bei *Watson* und *Robinson* nach dem Atomverhältnis Ca/P im ganzen System variiert.

<sup>11</sup> *M. L. Watson* und *R. A. Robinson*, Amer. J. Anatomy **93**, 25 (1953).

<sup>12</sup> *W. F. Neuman* und *M. W. Neuman*, Chem. Rev. **53**, 1 (1953).

<sup>13</sup> *H. Becher*, *K. Hoegen* und *G. Pfefferkorn*, Acta Anatom. [Basel] **20**, 105 (1954).

Hierbei ist wie oben zu berücksichtigen, daß entsprechend Gleichung (1) nur ein Teil des Phosphates in das Fällungsprodukt geht, also z. B. ein Verhältnis  $\text{Ca/P} = 1,67$  im Gesamtsystem, welches dem isolierten Hydroxylapatit entspricht, einen Phosphatmangel hinsichtlich dieser Fällung bedeutet und nur ein Phosphatüberschuß vollständige Fällung ermöglicht.

Unsere Versuchsbedingungen waren:

Fällungsreihe 1, Atomverhältnis  $\text{Ca/P} = 1,57:1$

80 ml 0,013 m  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung ( $\text{pH} = 8,8$ ),

dazu 10 ml 0,163 m  $\text{CaCl}_2$ -Lösung

Ansatz 1a:  $20^\circ$ , 1b:  $25^\circ$ , 1c:  $37^\circ$

Fällungsreihe 2, Atomverhältnis  $\text{Ca/P} = 18,0:1$

80 ml 0,072 m  $\text{CaCl}_2$  ( $\text{pH} = 6,5$ ),

dazu 10 ml 0,032 m  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Ansätze: 2a, 2b, 2c bei  $20^\circ$ ,  $25^\circ$  bzw.  $37^\circ$

Fällungsreihe 3, Atomverhältnis  $\text{Ca/P} = 1,045$

120 ml 0,013  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ( $\text{pH} = 8,8$ ),

dazu 10 ml 0,163 m  $\text{CaCl}_2$

Ansätze: 3a, 3b, 3c bei  $20^\circ$ ,  $25^\circ$  bzw.  $37^\circ$

Die Ergebnisse bei  $20^\circ$  bzw.  $37^\circ$  zeigen die Kurven Abb. 3 und Abb. 4, die Werte bei  $25^\circ$  liegen dazwischen. Die bei  $20^\circ$  erhaltenen Werte stim-

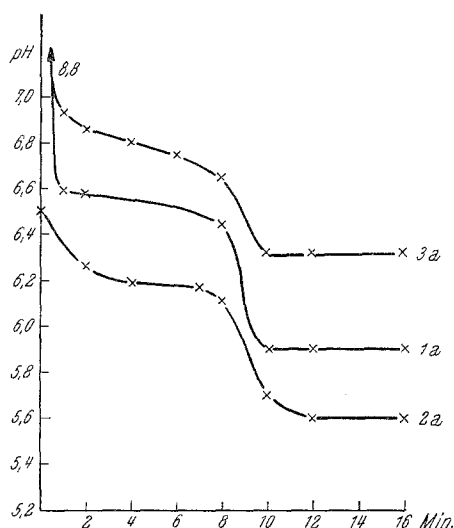


Abb. 3. pH-Änderung nach Fällung von Calciumphosphaten bei  $20^\circ$

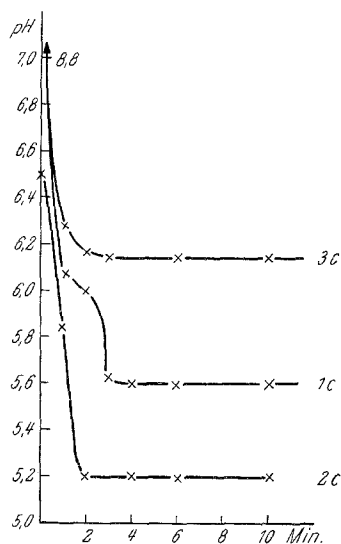


Abb. 4. pH-Änderung nach Fällung von Calciumphosphaten bei  $37^\circ$

men annähernd mit denen von *Watson* und *Robinson* überein. Sie zeigen ebenso Konstanz des pH-Wertes, etwa 8 Min. nach Vermischen der

Lösungen. Bei  $37^\circ$  wird der Endwert aber schon nach 2—4 Min. erreicht, zudem bleibt die bei  $20^\circ$  deutliche Zwischenstufe des pH-Abfalles bei  $37^\circ$  aus.

Der rasche Abfall zu Beginn jeder Kurve erklärt sich aus Gleichung (1) oder einer anderen Fällung unter Bindung von  $\text{PO}_4^{3-}$ -Ionen. Dieser Abfall wird durch höheres Ca/P-Verhältnis begünstigt, wie sich aus der tiefsten Lage der Kurven 2a und 2c ergibt. Die bei  $20^\circ$  auftretende Zwischenstufe kann mit der Bildung von  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  gegenüber  $\text{CaHPO}_4$  bei  $37^\circ$  zusammenhängen, denn es ist röntgenographisch in den Fällungen bei  $20^\circ$  das Dihydrat, in denen bei  $37^\circ$  das wasserfreie Salz nachzuweisen. Der apatitartige Anteil nimmt mit steigender Temperatur und höherem Ca/P-Verhältnis zu, er ist also in Versuch 2c am stärksten. Über die Struktur dieses Fällungsproduktes vgl. Abschnitt III ff.

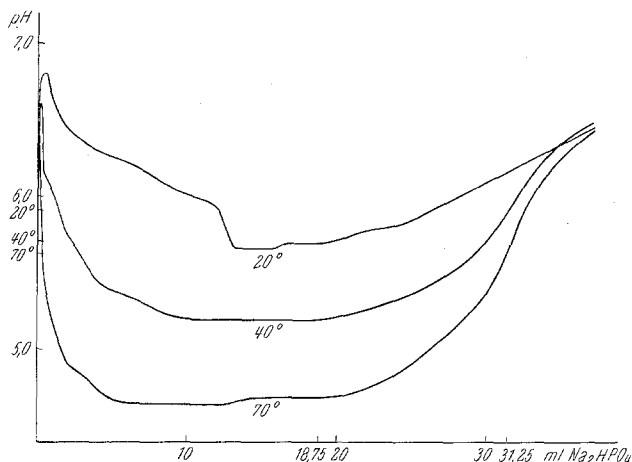
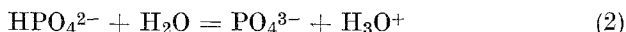


Abb. 5. pH-Änderung während Fällung von  $\text{Ca}^{2+}$  mit  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

In einer Fällungsreihe 4 wurde nicht die pH-Änderung nach völliger Vermischung, sondern während tropfenweiser Zufügung der Phosphatlösung zu einer  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung bei  $20^\circ$ ,  $40^\circ$  und  $70^\circ$  gemessen. Vorgelegt wurden 250 ml 0,05 m  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung, dazu 0,5 m  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  zugetropft, zuerst je 0,1 ml, dann je 1,0 ml, und der pH-Wert je nach einer Minute gemessen. Die Ergebnisse zeigen die Kurven (Abb. 5) bei  $20^\circ$ ,  $40^\circ$ ,  $70^\circ$ , sie weisen auf einen komplexen Reaktionsmechanismus hin.

Der kurze steile pH-Anstieg zu Beginn beruht auf der Neutralisation der schwach sauer reagierenden Ca-Lösung durch die  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ionen. Die mit zunehmendem pH-Wert erhöhte Konzentration von  $\text{PO}_4^{3-}$ -Ionen führt zur Ausfällung einer apatitartigen Phase. Diese Fällung bzw. der dadurch bewirkte pH-Abfall findet jedoch stark verzögert statt, er erfolgt erst nach Zugabe von 0,2 bis 0,5 ml  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung; offensicht-

lich ist die Bildung entsprechender Kristallisationskeime schwierig. Auf den pH-Abfall folgt bei allen Temperaturen ein horizontales Stück verschiedener Länge. Bei 70° wird es am raschesten erreicht, weil die Hydrolysenreaktion nach



am weitesten nach rechts verschoben ist und rasch zum gepufferten Endwert, hier  $\text{pH} = 5,65$ , kommt. Ein pH-Anstieg erfolgt dann bei allen Temperaturen gleichzeitig nach ca. 19 ml Phosphatzusatz, entsprechend einem Ca/P-Verhältnis im gesamten System von 4/3 (genau bei 18,75 ml). Das immer steiler werdende Ansteigen der pH-Kurve geht bis zu einem Wendepunkt bei  $\text{Ca/P} = 4:5$  (theoret. bei 31,25 ml).

Die Erreichung der ausgezeichneten Punkte bei diesen Äquivalenzverhältnissen kann durch Reaktionsgleichungen, nach denen sich  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  bildet, nicht erklärt werden, wohl aber durch ein Fällungsprodukt  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3$ . Dem Ca/P-Verhältnis 4/3 entspricht folgende Umsatzgleichung:



Dem Verhältnis  $\text{Ca/P} = 4/5$  entspricht



Die nach Gleichung (3) formal entstehende starke Säure wird durch Phosphat jeweils abgepuffert, so daß sich höhere pH-Werte ergeben, im wesentlichen durch  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  bestimmt. Sobald die Bildung saurer Ionen durch Gleichung (4) aufhört, verflacht sich die pH-Kurve (bei 31,25 ml), weil sie dem Puffergebiet der gleich großen Konzentration der Dihydrogen- und Hydrogenphosphationen zustrebt.

Über die Existenz der Verbindung  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3$  vgl. Abschnitt III ff.

## II. Leitfähigkeitstitationen

Eine wertvolle Ergänzung erfahren die pH-Titrationsversuche durch Verfolgung der Leitfähigkeit der Systeme während der Fällung. Hierzu wurde die Fällungslösung in Anteilen von je 1 ml nach jeweils 1 Min. der Vorlage zugesetzt und die Leitfähigkeit für einen hochfrequenten Wechselstrom gemessen. Eine Änderung der Fällungstemperatur (20°, 37°) bleibt auf die Kurvenform ohne Einfluß, die Kurven werden nur parallel verschoben (Abb. 6).

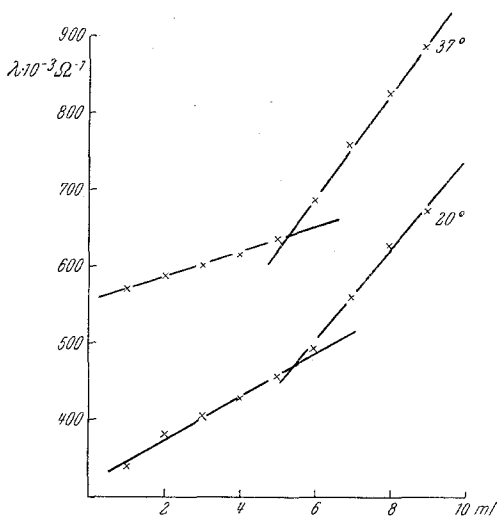


Abb. 6. Leitfähigkeitstitation von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  mit  $\text{CaCl}_2$

Bei Konzentrationsverhältnissen wie in Fällungsreihe 1 ( $\text{CaCl}_2$  zu  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  zugesetzt) ergeben sich Knickpunkte bei 5,40 ml (1a, 20°) bzw. 5,30 ml (1b, 37°). Da das Ca/P-Verhältnis im gesamten System bei Verwendung von 10 ml  $\text{Ca}^{2+}$ -Lösung 1,57 ist, wäre bei Ausfällung von  $\text{CaHPO}_4$  mit  $\text{Ca/P} = 1:1$  ein Knick bei  $10/1,57 = 6,37$  ml zu erwarten (Ansteigen der Leitfähigkeit, sobald keine Fällung mehr stattfindet), bei Bildung von Hydroxylapatit nach Gl. (1) bei  $6,37 \cdot 5/7 = 4,55$  ml.

Aus den dazwischen liegenden Meßwerten ist zu entnehmen, daß die Fällung weder reines  $\text{CaHPO}_4$  noch reiner Hydroxylapatit ist. Die Ergebnisse dieser Leitfähigkeitstitrationen machten daher ebenso wie die vorhergehenden Titrationen die Überprüfung der Existenz der zwischen Hydroxylapatit und Calciumhydrogenphosphat liegenden Verbindung  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3$  notwendig.

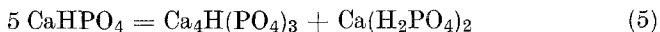
### III. Herstellung und Eigenschaften von Tetracalciumhydrogentrisphosphat („Oktophosphat“ = OCP)

Ein Calciumphosphat mit einem Ca/P-Atomverhältnis 4/3 wurde erstmalig von *Berzelius* als „Oktocalciumphosphat“ bezeichnet<sup>14</sup>. Auch *Warington*<sup>15</sup> erhielt durch langsame Fällung von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  mit  $\text{CaCl}_2$  ein Produkt dieser Zusammensetzung. *Arnold*<sup>16</sup> bekam Hinweise für seine Existenz durch Röntgenaufnahmen. *Kurmies*<sup>17</sup> fand beim Versuch, reinstes  $\text{CaHPO}_4$  durch Fällung herzustellen, ein Nebenprodukt basischerer Zusammensetzung, wenn er in großer Verdünnung arbeitete; es trat dann teilweise Hydrolyse des  $\text{CaHPO}_4$  ein. Das Präparat wurde auf Elektronenmikrographien als dünne Blättchen erkannt, die von *Kurmies* publizierten Apatitdiagramme sind aber alle dem Hydroxylapatit zuzuordnen. *Kurmies* bezweifelt die Möglichkeit einer Reindarstellung des „Oktophosphates“, zumal auch andere Versuche in dieser Richtung (*Buch*<sup>18</sup>) negativ ausgefallen waren.

*N. Bjerrum*<sup>19</sup> erhielt 1935 (erst 1958 publiziert) durch Hydrolyse von  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  bei 37° in schwach salzsaurer Lösung Sphärolite der analytischen Zusammensetzung  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , später in  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ -Lösung ein Trihydrat. In letzter Zeit stellten *Brown* und Mitarbeiter<sup>20</sup> das selbe kristalline Salz mit 2,88 Molen Wasser durch Hydrolyse von sec. Calciumphosphat in 0,1 m Natriumacetatlösung bei 40° her.

Die fragliche Verbindung bildet sich demnach im neutralen und schwach sauren Bereich. Die obigen Versuche in Pufferlösungen sollten ein bestimmtes pH-Bereich sicherstellen, wobei der Nachteil einer Verunreinigung des Präparates durch den Pufferzusatz in Kauf genommen wurde.

Eine solche Pufferung ist jedoch nicht nötig, da sich durch Hydrolyse sofort ein  $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ -Puffersystem einstellt, z. B. nach



<sup>14</sup> J. J. *Berzelius*, Ann. Chem. Pharm. **53**, 286 (1845).

<sup>15</sup> R. *Warington*, J. Chem. Soc. [London] [2] **4** (= **19**), 296 (1866).

<sup>16</sup> R. W. *Arnold*, Trans. Faraday Soc. **46**, 1061 (1950).

<sup>17</sup> B. *Kurmies*, Die Phosphorsäure **13**, 57 (1953).

<sup>18</sup> K. *Buch*, Z. Anorg. Chem. **52**, 325 (1907).

<sup>19</sup> N. *Bjerrum*, Mat. fys. Medd. Dan. Vid. Selsk. **31** (1958), Nr. 7.

<sup>20</sup> W. E. *Brown*, J. R. *Lehr*, J. P. *Smith* und A. W. *Frazier*, J. Amer. Chem. Soc. **79**, 5318 (1957).



Die zum basischeren Hydroxylapatit führende Hydrolyse beginnt bei über  $50^\circ$  und verläuft rasch erst über  $75^\circ$ . Deshalb unternahmen wir die Hydrolyseversuche mit reinem Wasser bei  $40^\circ$ . 1 g gut kristallisiertes  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  wurde in 100 ml dest. Wasser bei  $40^\circ$  suspendiert, die eintretende Reaktion [Gl. (5)] war am pH-Abfall zu verfolgen. Sie wurde durch 10malige Erneuerung des reinen Wassers bei Erreichung eines pH-Wertes von 6,2 nach je etwa 6 Std. beschleunigt.

Das Reaktionsprodukt erscheint in mehr oder weniger länglichen blättchenförmigen Kristallen von  $20 \mu$  Länge, von welchen Abb. 7 charakteristische Formen und Bruchstücke zeigt.

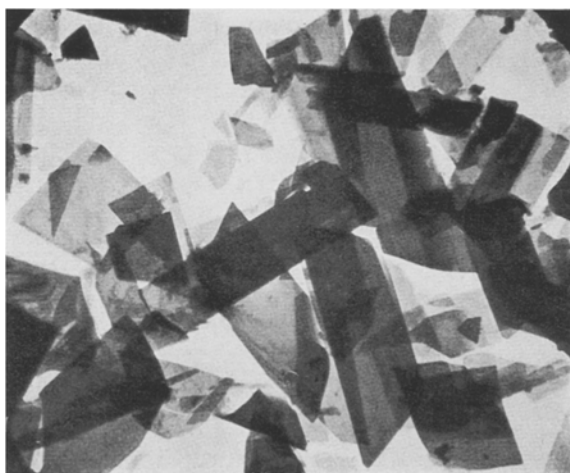
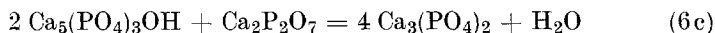


Abb. 7.  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , 7000:1 hydrolytisch

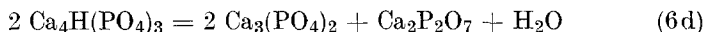
Die analytische Zusammensetzung unseres Produktes entspricht gut der Formel  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3$  in bezug auf das Ca/P-Verhältnis: ber. 1,333, gef. 1,322. Die Analyse, gef. Ca 32,5%, P 19,0%, gab jedoch keinen eindeutigen Aufschluß über den Wassergehalt. Die Angaben in der Literatur hierüber sind ebenfalls nicht einheitlich und schwanken zwischen 2 und 3 Mol Wasser. Unsere an zwei getrennt hergestellten luftgetrockneten Präparaten angestellte Bestimmung des Glühverlustes bei  $700^\circ$  ergab 2,80 bzw. 2,90 Mol Wasser pro Mol  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3$ . Hiervon wurden aber 0,35 bzw. 0,37 Mole schon in kurzer Zeit bei  $100^\circ$  frei und sind als bloß adsorptiv gebunden anzusprechen. Die Abspaltung der restlichen 2,5 Mole erfolgt bei höherer Temperatur: 1 Mol bei  $120^\circ$ , der Rest bei langsamen Erhitzen bis  $700^\circ$ , wobei jedoch bei  $300^\circ$  eine deutliche Stufe festzustellen ist.

Diese Wasserabspaltung kann zum Teil auf chemische Umsetzung zurückgehen. Wir untersuchten deshalb die Struktur verschieden er-

hitzter Präparate nach der Pulvermethode. Das Ergebnis war, daß bis 300° das Diagramm von  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3$  verbleibt, dessen Linien werden dann langsam diffus. Bei 500° liegt im wesentlichen Hydroxylapatitstruktur und ab etwa 700° Tricalciumphosphatstruktur vor. Es sind folgende Reaktionsgleichungen anzunehmen:



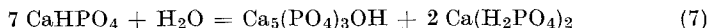
Die Umsetzung (6a) geht anscheinend noch mit der zweiten Kristallwassermolekel vor sich, bei 300° beginnt die Wasserabspaltung nach (6b). Das Pyrophosphat ist als röntgenographisch schwer nachweisbar bekannt<sup>21</sup>, es setzt sich z. T. bis 700° mit Apatit zu Tricalciumphosphat um. Insgesamt ergibt sich



d. h. pro Mol Oktophosphat wird ein halbes Mol Wasser durch die chemische Umsetzung frei. Die Formel der bei 40° aus der wäßrigen Lösung erhaltenen Substanz ist daher  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ .

Zur weiteren Kennzeichnung des Präparates wurde die Reaktion nach Gl. (5) in bezug auf die Zusammensetzung der entstehenden Lösung überprüft. Es wurde etwa 1 g  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  100 Stdn. bei 40° der Hydrolyse in reinem Wasser unter Umschütteln überlassen. Das Atomverhältnis Ca/P in der Lösung ergab sich dann zu 0,52 statt 0,50 für das zu erwartende  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , also im wesentlichen damit übereinstimmend.

Wenn ein gleiches System 10 Stdn. der Rückflußkochung unterworfen wird, entsteht nach



ebenfalls Dihydrogenphosphatlösung, entgegen Literaturangaben, welche die Bildung von Phosphorsäure verlangen<sup>22</sup>.

Die Löslichkeit des „Oktophosphates“ liegt erwartungsgemäß zwischen der des Hydrogenphosphates und des Hydroxylapatites. Ein orientierender Versuch ergab nach 48stdg. Schütteln der kristallinen Substanz in ausgekochtem Wasser bei 18° in der Lösung ein Ca/P-Verhältnis von 1,32 (statt 1,33) und 11 mg  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3$  pro Liter der Lösung.

Die Ergebnisse von Ultra-Rot-Aufnahmen<sup>23</sup> stehen nicht im Widerspruch zur Formulierung als  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ . Freie ungestörte Hydroxylgruppen sind nicht vorhanden. Von den drei OH-Valenzbanden bei 3350, 3050 und 2750  $\text{cm}^{-1}$  kann die kurzwelligste der OH-Gruppe des  $\text{PO}_3\text{OH}^{2-}$ -Ions zugeordnet werden.

<sup>21</sup> A. Gee und V. R. Deitz, J. Amer. Chem. Soc. **77**, 2961 (1955).

<sup>22</sup> J. R. van Wazer, Phosphorus and its Compounds (New York 1958), Vol. I, 519.

<sup>23</sup> Diese verdanken wir Herrn Prof. Dr. O. Glemser, Göttingen.

## IV. Röntgenuntersuchungen

Die strukturelle Identifizierung unserer Präparate erfolgte durch Röntgenaufnahmen nach dem Pulververfahren (Cu-K $\alpha$ -Strahlung, Ni-Filter, 57,3 mm-Kamera).

Von Interesse ist dabei die Nachweisbarkeit der verschiedenen Calciumphosphate in ihren Mischungen. Solche wurden durch Verreiben in verschiedenen Mengenverhältnissen hergestellt. Die Nachweisbarkeitsgrenzen liegen nicht günstig, da die sehr linienreichen Diagramme nur wenige hervorstechende Linien aufweisen und diese in einem engen Winkelbereich, so daß sie bei feinteiligen Präparaten und daher nicht sehr scharfen Diagrammen schwer auseinanderzuhalten sind. So liegt bei Bedingungen unserer Fällungsreihen die Nachweisbarkeitsgrenze von  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  in Mischung mit Hydroxylapatit bei etwa 25% und ebenso hoch die des  $\text{CaHPO}_4$ .

Die Röntgenstruktur der Reinsubstanzen  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  und  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  ist gut bekannt, die des  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  dagegen noch umstritten. Es führten *Arnold*<sup>16</sup>, *Bjerrum*<sup>19</sup> und *Brown*<sup>20</sup> Röntgenuntersuchungen daran aus, sie führten aber zu verschiedenen Ergebnissen: *Arnold* und insbesondere die genaue Untersuchung von *Brown* weist auf apatitartige Struktur hin, *Bjerrum* lehnt eine Ähnlichkeit mit Hydroxylapatit aber entschieden ab.

*Brown* gibt auch Werte für die Achsenlänge und -winkel der Elementarzelle des „Oktophosphates“ an, die eine verzerrte Apatitstruktur wahrscheinlich machen. Es fehlen dort aber Angaben über die charakteristische Linienfolge des Pulverdiagramms, welche die Unterscheidung vom Hydroxylapatit ermöglicht. *Jensen*<sup>24</sup> hat den Nachweis von Oktophosphat im Zahnstein mit Hilfe einer *Guinier*-Kamera durch Linie  $d = 18,6$  erbracht. Auch *Carlström*<sup>6</sup> gibt aus dem Kleinwinkelbereich Röntgenlinien an, welche den  $d$ -Werten 18,36, 9,34, 8,94 und 5,52 entsprechen, jedoch keine weiteren Linien, welche im normalen *Debye*-Diagramm sichtbar sind.

Unsere Ergebnisse von Pulverdiagrammen des Hydroxylapatites und des Oktophosphates sind in Tab. 1 zusammengestellt; sie ermöglichen die Unterscheidung der beiden Substanzen durch drei besonders charakteristische Liniengruppen:

1. Die sehr starke Linie  $hkl = 130$ ,  $d = 2,24$  des HA ist bei OCP schwach und diffus.

2. Das kräftige Linienpaar ( $hkl$ ) 222—123,  $d = 1,92$  und 1,83 des HA ist bei OCP abgeschwächt.

3. Die bei HA zwischen  $hkl$  123 und 004,  $d = 1,83$  und 1,71 liegenden drei Linien fehlen bei OCP und es zeigt sich daher hier ein auffallend heller Bereich. Auch in diffusen Diagrammen läßt sich hiermit eindeutig

<sup>24</sup> A. T. Jensen und K. G. Hansen, Exper. [Basel] **13**, 311 (1957).

eine Unterscheidung zwischen HA und OCP treffen. Die für HA charakteristischen Liniengruppen bei größeren  $d$ -Werten, 1,45, 1,23, 1,12 und 1,04, welche den Eindruck eines Wellenbildes erwecken, treten bei OCP in gleicher Weise auf.

Tabelle 1. Röntgendaten von HA und OCP

$\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_2\text{OH}$				$\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$		
$2\theta$	Inten- sität	$hkl$	$d$	$2\theta$	Inten- sität	$d$
—	—	—	—	9,6	3	9,21
10,6	3	100	8,34	—	—	—
—	—	—	—	14,1	1	6,28
16,0	1	101	5,48	16,1	3	5,50
18,8	1	110	4,72	—	—	—
21,6	1	200	4,11	—	—	—
23,5	1	111	3,78	24,4	3	3,64
26,6	4	002	3,35	26,2	4	3,40
29,2	4	120/210	3,06	28,2	3	3,16
31,5	2	121	2,84	31,6	5	2,83
32,4	5	112	2,76	—	—	—
33,8	4	300	2,65	33,5	4	2,67
34,7	2	202/022	2,58	35,1	1	2,55
35,8	2	301/031	2,51	36,5	1	2,46
40,3	4	130	2,24	40,8	2	2,21
42,3	2	131	2,14	41,7	1	2,16
44,6	1	113	2,03	45,7	Band	1
45,6	1	203	1,99			
47,2	4	222	1,92	46,5	2	1,95
—	—	—	—	48,2	Band	1
48,5	2	132	1,88			
49,9	4	123	1,83	49,4	3	1,84
50,9	2	321/231	1,79	—	—	—
51,7	2	310/014	1,77	—	—	—
52,2	2	402/042	1,75	—	—	—
—	—	—	—	53,1	1	1,72
53,5	4	004	1,71	53,7	3	1,71
61,6	2	241	1,51	61,6	2	1,51
63,2	1	—	1,47	63,2	2	1,47
64,4	3	332	1,45	64,4	2	1,45
65,4	2	—	1,43	—	—	—
70,0	1	—	1,34	70,3	2	1,34
77,2	3	—	1,23	76,6	2	1,24
87,4	3	—	1,12	87,8	2	1,11
96,0	2	—	1,04	96,6	2	1,03

### V. Mikroaufnahmen und Folgerungen

Mikroskopische Aufnahmen der Produkte unserer Fällungsreihen 1—3 zeigen unmittelbar nach der Entstehung amorphe Massen. In diesen

erscheinen bei den Ansätzen von 20° nach einiger Zeit blättchenförmige rhomboedrische Kristalle von  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  in einer Größe bis zu mehreren 100  $\mu$ . Der Hauptteil der Präparate bleibt jedoch amorph.

Dies kommt auch in den Röntgendiagrammen zum Ausdruck, welche bei Aufnahme sofort nach der Herstellung filtrierter Proben ein nicht sehr scharfes Apatitdiagramm ergeben, nach 30 Min. isoliert daneben aber Linien von  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  aufscheinen lassen. Durch die gute Kristallausbildung sind die Linien sehr scharf und brechen zwischen dem diffusen Apatitdiagramm durch. Im Verlauf mehrerer Tage erfahren die Blättchen unter der Mutterlauge eine charakteristische Abrundung der Ecken. Auf Mikrobildern der bei 37° hergestellten Fällungen erscheinen die großen Kristalle nicht, das Röntgendiagramm gibt Andeutung von  $\text{CaHPO}_4$ , wasserfrei.

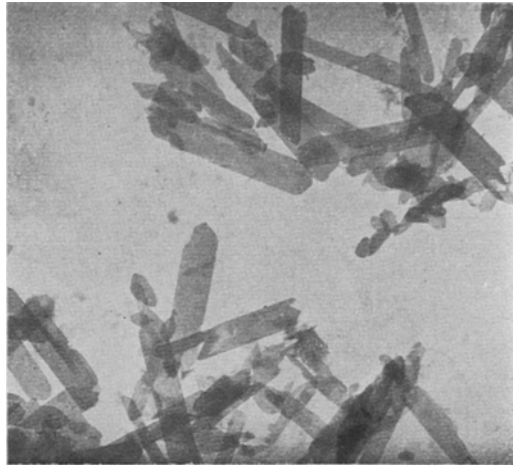


Abb. 8.  $\text{Ca}_7\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , Fällung 9200:1

Der amorphe Anteil wurde elektronenmikroskopisch untersucht, dabei zeigten sich längliche Kristalle der Größenordnung 0,01—1  $\mu$ . In besserer Ausbildung konnten wir sie durch Zutropfen von Ca-Salzlösung zu Natriumphosphatlösung erhalten, wobei die im neutralen Milieu entstehenden länglichen sechseckigen Blättchen mit zunehmendem pH-Wert durch kleine Nadelchen ersetzt wurden (Tab. 2). Röntgenaufnahmen bestätigten, daß die Blättchen OCP, die kleinen Nadeln HA darstellen.

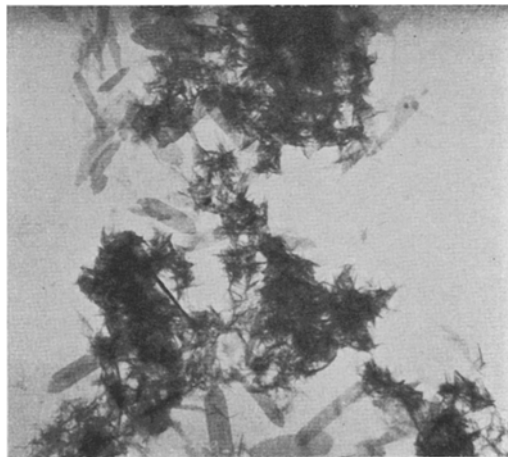


Abb. 9. OCP und HA, Fällung 9200:1

Die länglichen sechseckigen Blättchen des OCP sind morphologisch und der Entstehung nach identisch mit den von *Watson* und *Robinson*<sup>11</sup>

als HA angesprochenen Fällungen. Sie sind, da die Mineralsubstanz der Knochen sich, soweit bisher bekannt, stets als Hydroxylapatit zeigt, keineswegs als Modell für deren Struktur verwendbar. Es bleibt abzuwarten, ob auf Grund der Unterscheidungsmöglichkeit von OCP und HA OCP sich als primäres Calcificationsprodukt nachweisen läßt, da gewisse Angaben in der Literatur dafür sprechen, daß u. U. ein weniger basisches Calciumphosphat als HA hierbei auftritt.

Tabelle 2  
Elektronenmikroskopie der Calciumphosphatfällungen

pH der Phosphat-fällungslösung	Abb.	Morphologie der Fällung
7,0	8	Längliche sechseckige Blättchen von $2 - 3 \mu$ = OCP
8,0	—	desgleichen mit wenig Nadeln von $0,1 \mu$ Länge
9,0	9	mehr kleine Nadeln als Blättchen
11,0	—	nur Nadeln = HA

Die Existenz der Verbindung  $\text{Ca}_4\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  mit apatitähnlicher Struktur im schwerlöslichen Fällungsprodukt von Calcium- mit Phosphationen ist im übrigen wesentlich für die Klärung der Frage der Existenz eines Tricalciumphosphathydrates. Es wird nämlich durch die Bildung des OCP sowohl das niedere Ca/P-Verhältnis als auch der Wassergehalt der Fällungsprodukte zwanglos erklärt. Beide Tatsachen können durch Feinteiligkeit der Fällung und dadurch verursachte Adsorption von anderen Ionen ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ) bzw. von Wasser, *allein* keine so eindeutige Erklärung finden. Andererseits wird die Annahme der Bildung von  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 2/3 \text{H}_2\text{O}$  oder eines anderen Hydrates, gegen welche schon zahlreiche Gründe sprechen<sup>6, 4</sup> erneut ihrer Stützen beraubt.