

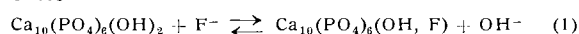
# Fluor-Hydroxyl-Substitution am Hydroxylapatit als Ionenaustauschreaktion und ihre Anwendung für die Mikrofluoranalyse

Von Prof. Dr. A. KNAPPWOST\*)

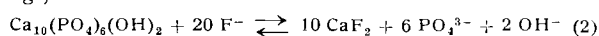
Institut für physikalische Chemie der Universität Tübingen

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  $\text{CaF}_2$  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 Stadlmann<sup>1)</sup> bereiteten großoberflächigen Hydroxylapatit, den wir durch wiederholtes Behandeln mit  $\text{H}_2\text{O}$  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 Stadlmann bereiteten, also kalt gefällten Hydroxylapatits, der aber, um Gitterfehlstellen zu beheben, im Autoklaven bei 140 °C gealtert worden war, wurde in 600 cm<sup>3</sup> einer gesättigten  $\text{CaF}_2$ -Lösung fluoriert. Um die F-Konzentration nicht zu extrem absinken zu lassen, wurde ein sauberer großer  $\text{CaF}_2$ -Kristall zugegeben. Bei 97 °C und Durchleiten eines nicht von  $\text{CO}_2$  befreiten Luftstromes wurde in 125 h ein Substitutionsgrad  $\frac{\gamma \text{F}}{\gamma \text{OH}}$  von 0,196 ( $\gamma$  = Molenbruch) erhalten. Dieser Substitutionsgrad ist keineswegs der Endwert. Der  $\text{CaF}_2$ -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  $\text{CaF}_2$  aufrecht erhalten wurde, erhielt Haas<sup>2a)</sup> bei 25 °C in 18 h an einem in der Siedehitze gefällten und 15 h im Autoklaven bei 170 °C in  $\text{H}_2\text{O}$  in Gegenwart von  $\text{CaCO}_3$  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 Austausch-

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 °C 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 worden<sup>2)</sup>. Uns kam es darauf an, die Rückreaktion an reinem Apatit nachzuweisen. Die Bindung der Fluor-Ionen an Hydroxylapatit ist also  $p_{\text{H}}$ -abhängig. Die Fluorierungsgeschwindigkeit von Hydroxylapatit bei verschiedenem  $p_{\text{H}}$ , und zwar unterhalb der durch Reaktion (2) bzw. durch das Löslichkeitsprodukt des  $\text{CaF}_2$  gekennzeichneten Grenzkonzentration ergab, daß schon bei  $p_{\text{H}}$ -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 Knochen<sup>3)</sup>, andererseits seit der Entdeckung der kariesprophylaktischen Wirkung der F-Ionen<sup>4)</sup> für Gehalts- und Resorptionsuntersuchungen besonders wichtig geworden, aber sie ist trotz neuentwickelter Verfahren noch verbesserungsfähig.

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  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , auch höhere Cl-Gehalte stören, wurden diese Stoffe bisher durch  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{BaCl}_2$  usw. individuell entfernt<sup>5, 6)</sup>. 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  $\text{H}_2\text{SiF}_6$  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

<sup>2)</sup> W. H. MacIntire u. J. W. Hammond, Ind. Engng. Chem. 30, 160 [1938].

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

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

<sup>5)</sup> Th. v. Fellenberg, Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. Vol. XXVII, 150 [1937].

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

\*) Herrn Professor Dr. Dr. h.c. Wilhelm Klemm zum 60. Geburtstag.

<sup>1)</sup> E. Hayek u. W. Stadlmann, diese Ztschr. 67, 326 [1955].

<sup>2a)</sup> F. Haas, unveröffentl.

Kurmies<sup>7)</sup> 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<sup>5, 8)</sup> 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 cm<sup>3</sup>) der zu untersuchenden Lösung, das bis zu 250  $\gamma$  Fluor enthalten kann, mit 200 mg Hydroxylapatit bei p<sub>H</sub> 6,8 bis p<sub>H</sub> 7,2 gekocht. Als Hydroxylapatit eignet sich sehr gut das oberflächenreiche Material, das nach Hayek und Stadlmann leicht in ausreichenden Mengen als Vorrat herstellbar ist. Die Alterung mit H<sub>2</sub>O 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 1 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 cm<sup>3</sup> einer etwa 1 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> aufgenommen und das Filtrat mit weiteren 10 cm<sup>3</sup> 1 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, die zum Spülen des Filters dienen, auf 50 cm<sup>3</sup> ergänzt. Diese Menge wird für 5 Destillationen in 5 gleiche Teile geteilt.

### Destillation des F als H<sub>2</sub>SiF<sub>6</sub> aus einer H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O-Mischung

Die geeignete Destillationsapparatur zeigt Bild 1. Wichtig ist ein Kjeldahl-Kolben von etwa 50 cm<sup>3</sup> Inhalt mit möglichst langem Hals, um den Übergang von Tröpfchen in das Destillat zu unterbinden. So läßt sich eine H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O-Mischung statt der üblich gewordenen Überchlorsäure als Aufschluß- und Siedeflüssigkeit verwenden.

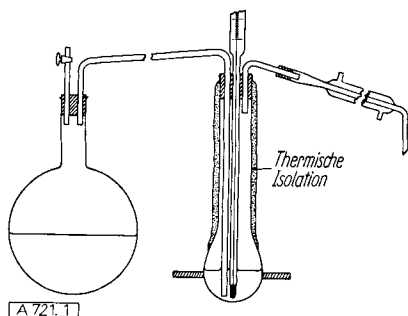


Bild 1

Destillationsapparatur zur Abtrennung des F als H<sub>2</sub>SiF<sub>6</sub> aus einer H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O-Mischung. Der Hals des Kjeldahl-Kolbens soll mindestens 25 cm lang sein, um die Sedimentation von H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O-Tröpfchen zu ermöglichen.

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

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

Der Kjeldahl-Kolben enthält insgesamt etwa 21 cm<sup>3</sup> Flüssigkeit, neben 10 cm<sup>3</sup> der Fluor-haltigen 1 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O und 9 cm<sup>3</sup> konzentrierte H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Dichte 1,84 g/cm<sup>3</sup>), ferner etwa 100 mg Quarzmehl und einige Bismsteinstückchen. Beide Substanzen müssen durch Auskochen in konzentrierter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> von Fluor befreit worden sein. Durch einen gut anliegenden Asbestring wird Überhitzung oberhalb des Meniskus und damit ein Übertritt störender H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-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 H<sub>2</sub>O-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 cm<sup>3</sup> 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 cm<sup>3</sup> Destillat gefundene F-Menge m<sub>2F</sub> liegt als H<sub>2</sub>SiF<sub>6</sub> vor und kann nach irgend einem der bekannten Verfahren z. B. kolorimetrisch oder titrimetrisch mittels Thoriumnitrat und Natriumalazarinsulfonat als Farblackindikator bestimmt werden.

Die gefundene F-Menge m<sub>2F</sub> ist im allgemeinen etwas niedriger, obgleich sie im Prinzip bei höheren Fluor-Gehalten des Hydroxylapatits oder der H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auch größer sein könnte als die in der zu analysierenden Lösung vorliegende F-Menge m<sub>0F</sub>. Sie ist dieser aber streng proportional.

$$m_{2F} = \text{prop} \cdot m_{0F} \quad (3)$$

Diese Behauptung gründet sich auf der Überlegung, daß für eine Isotherme in dem quasibinären System ( $\gamma_{\text{H}_2\text{SO}_4} = \text{const.}$ ) die Aktivität des H<sub>2</sub>SiF<sub>6</sub> für die kleinen hier vorkommenden Molenbrüche diesen auch dann hinreichend streng proportional ist, wenn die Aktivitätsisotherme der H<sub>2</sub>SiF<sub>6</sub> einen komplizierten Verlauf zeigen sollte. Dann ist die pro Fraktionselement dv übergehende F-Menge dm<sub>F</sub> der jeweiligen noch im Kjeldahl-Kolben vorhandenen F-Menge m<sub>F</sub> proportional,

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

wobei die Konstante  $\alpha$  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

$$m_{1F} = m_{0F} \cdot e^{-\alpha v} \quad (5)$$

und die in das Destillat übergegangene F-Menge

$$m_{2F} = m_{0F} (1 - e^{-\alpha v}) \quad (6)$$

Ihre Summe

$$m_{1F} + m_{2F} = m_{0F}$$

ist also gleich der F-Anfangsmenge m<sub>0F</sub>. Für konstantes Fraktionsvolumen v = 30 cm<sup>3</sup> ergibt sich demnach die im Destillat auftretende F-Menge m<sub>2F</sub> als der vorliegenden Anfangsmenge m<sub>0F</sub> proportional.

$$m_{2F} = (1 - e^{-\alpha v}) m_{0F} = \text{const.} m_{0F} \quad (7)$$

### Die Titration

Die H<sub>2</sub>SiF<sub>6</sub> im Destillat kann auf verschiedene Weise bestimmt werden. Wir haben bisher meist nach der etwas abgeänderten Vorschrift von v. Fellenberg<sup>5, 8)</sup> gearbeitet.

Man titriert 10 cm<sup>3</sup> 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:  $\sim 0,01$  n Thoriumnitrat-Lösung: 1,74 g kristallisiertes Thoriumnitrat, 1000 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O. Natriumalazarinsulfonat-Lösung: 0,05proz. wäßrige Lösung;  $\sim 0,25$  n HCl;  $\sim 0,1$  n NaOH.

Vergleichsprobe: Man gibt in mindestens 3 Reagenzgläser je 10 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O, 0,1 cm<sup>3</sup> Natriumalazarinsulfonat-Lösung, 0,05 cm<sup>3</sup> NaOH-Lösung, 0,15 cm<sup>3</sup> HCl-Lösung und 0,01 cm<sup>3</sup> Thoriumnitrat-Lösung, vergleicht sie im Komparator untereinander und wählt diejenige mit dem mittleren Farbton als Vergleichsprobe. Die Vergleichsprobe wird täglich neu hergestellt.

Zu analysierende Probe: Zu einer Mischung von 10 cm<sup>3</sup> des H<sub>2</sub>SiF<sub>6</sub>-haltigen Destillats, 0,1 cm<sup>3</sup> Natriumalazarinsulfonat-Lösung, 0,05 cm<sup>3</sup> 0,1 n NaOH, 0,15 cm<sup>3</sup> 0,25 n HCl, wird mit einer 0,1 cm<sup>3</sup> fassenden Mikropipette Thoriumnitrat-Lösung bis zur Farbgleichheit mit der Vergleichsprobe 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-

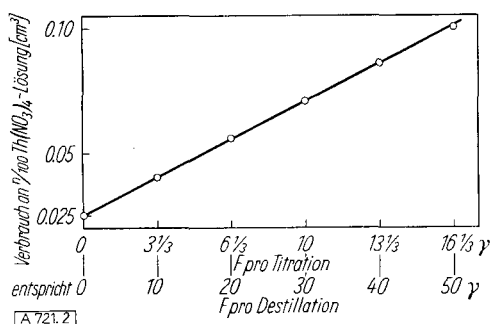


Bild 2

Eichkurve zwischen Thoriumnitrat-Verbrauch und bekannten F-Mengen, die den Analysengang 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 trägheitsarme 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 annellierter 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 halten<sup>1)</sup>. 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.

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

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 Filterschicht 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