

Quantitative mikroanalytische Bestimmung funktioneller Gruppen organischer Verbindungen*

Von Wolfgang Schöniger

Mikroanalytisches Laboratorium der pharmazeutisch-chemischen Abteilung der Sandoz AG, Basel

Die quantitative Bestimmung der Elemente einer organischen Verbindung führt letzten Endes zur Auffindung bzw. bei bekannten Substanzen zur Bestätigung der Bruttoformel. Wenn, allgemein gesprochen, genauere Angaben über die zu analysierende Substanz gemacht werden sollen, so müssen zusätzlich andere Methoden verwendet werden. Obzwar heute zu diesem Zweck eine Vielzahl von physikalischen und physikalisch-chemischen Methoden dem Chemiker zur Verfügung stehen, so z. B. die Bestimmung der UV- und IR-Absorptionsspektren, der Kernresonanz, Rotationsdispersion, Aufnahmen von Polarogrammen usw., haben die rein chemischen Methoden zur Bestimmung funktioneller Gruppe ihre Bedeutung behalten. In vielen Fällen können sie zusammen mit physikalischen Verfahren erfolgreicher verwendet werden als die einzelnen Methoden allein. Wie im folgenden an einigen Beispielen gezeigt werden soll, ist das Gebiet der chemischen Bestimmung funktioneller Gruppen, auch wenn die meisten dieser Methoden schon seit Jahrzehnten bekannt und in Gebrauch sind, noch lange nicht abgeschlossen, sondern in ständiger Entwicklung begriffen.

Wenn in einer organischen Verbindung funktionelle Gruppen bestimmt werden sollen, ist zunächst zu unterscheiden, ob bei einer unbekanntem Substanz die Struktur des Moleküls aufgeklärt oder ob die Reinheit eines bekannten Stoffes geprüft werden soll. Je nachdem müssen verschiedene Ansprüche an die verwendeten Methoden gestellt werden.

Strukturaufklärung

Werden funktionelle Gruppenbestimmungen für die Strukturaufklärung verwendet, so ist in vielen Fällen eine Genauigkeit von $\pm 10\%$ bereits ausreichend. Es handelt sich ja stets darum, daß die Unterscheidung zu treffen ist, ob 0, 1, 2 oder mehrere Gruppen vorhanden sind. Eine größere Genauigkeit ist nur dann erforderlich, wenn «kleine Gruppen» (z. B. aktiver Wasserstoff) in Substanzen mit großem Molekulargewicht zu bestimmen sind. Man kann daher zu diesem Zweck auch solche Methoden verwenden, die eine geringere Genauigkeit aufweisen.

Reinheitsprüfung

Die Überprüfung der Reinheit einer Substanz mittels Elementaranalyse kann in den meisten Fällen nicht

* Vortrag anlässlich der Winterversammlung des Schweizerischen Chemiker-Verbandes am 31. Januar 1959 in Freiburg.

durchgeführt werden. Verunreinigungen von mehreren Prozenten machen sich nur durch Schwankungen innerhalb der Fehlergrenze bemerkbar, wenn der Begleitstoff ein ähnliches Atomverhältnis hat wie die zu prüfende Substanz («Idealfall»: Gemische von $C_2H_5OC_2H_5$ und $CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2OH$ geben stets die gleichen Prozentwerte wie die entsprechenden reinen Substanzen). Die Elementaranalyse kann nur dann mit Erfolg eingesetzt werden, wenn in der möglichen Verunreinigung ein Element vorkommt, das in der zu prüfenden Substanz nicht enthalten ist, oder umgekehrt.

In allen diesen Fällen ist eine Gruppenbestimmung vorzuziehen, da die funktionelle Gruppe für eine organische Verbindung charakteristischer ist als die Elemente. Man hat bei der Wahl der zu bestimmenden Gruppe dann nur darauf zu achten, daß sie nur in den Verunreinigungen vorkommt (im obigen Beispiel könnte die Reinheit des Äthers entweder durch die Bestimmung des aktiven Wasserstoffes oder der OH-Gruppe überprüft werden).

Schwierigkeiten bei Gruppenbestimmungen

Bei der Elementaranalyse wird die zu analysierende Substanz völlig zerstört, d. h. in einfache anorganische Verbindungen übergeführt. Daraus ergibt sich, daß man in der Wahl der Reaktionsbedingungen einen sehr großen Spielraum hat. Bei der Bestimmung funktioneller Gruppen liegen die Verhältnisse nicht so einfach. Es werden in allen Fällen Synthesen bzw. Abbaureaktionen durchgeführt, und zwangsläufig treten alle Schwierigkeiten auf, die dem präparativ arbeitenden organischen Chemiker geläufig sind. Der Ablauf dieser Reaktionen kann nur in gewissen Grenzen, sei es durch Konzentrationserhöhung, sei es durch Temperatursteigerung oder durch Verschiebung des Reaktionsgleichgewichtes durch Entfernung eines Reaktionsproduktes beeinflusst werden. Dabei muß noch stets darauf geachtet werden, daß eine «100prozentige Ausbeute» erhalten wird.

Als Beispiel für die analytische Verwendung einer Synthese sei auf die Carbonylgruppenbestimmung über das 2,4-Dinitrophenylhydrazon oder die Hydroxylgruppenbestimmung mittels Acetylierung hingewiesen. Abbaureaktionen werden z. B. bei der Bestimmung primärer Aminogruppen nach VAN SLYKE oder bei der C-Methylgruppen-Bestimmung mittels Chromsäureoxydation verwendet.

Die bisher angeführten Gesichtspunkte geben zugleich die Richtung an, in der die Weiterentwicklung der chemischen Methoden zur Bestimmung funktioneller Grup-

Tab. 1. Methoden zur mikroanalytischen Bestimmung funktioneller Gruppen

Zu bestimmende Gruppe	Prinzip	Endbestimmung
Hydroxyl	a) Acetylierung b) Bestimmung des aktiven Wasserstoffs	maßanalytisch gasvolumetrisch
aktiver Wasserstoff	Umsetzung mit GRIGNARD-Reagens	gasvolumetrisch
Carboxyl	direkte bzw. indirekte Titration	maßanalytisch
Säureanhydrid, Lacton	Hydrolyse mit überschüssiger Lauge	maßanalytisch
Säureamide	Verseifen mit Lauge	maßanalytisch
Acetyl (Acyl)	Verseifen	maßanalytisch gaschromatographisch
C-Methyl	Oxydation mit Chromsäure	maßanalytisch (papier-, gaschromatographisch)
C=C	a) Anlagerung von Wasserstoff b) Umsetzung mit LiAlH ₄	gasvolumetrisch (a, b) manometrisch (a, b) maßanalytisch (b)
C≡C	Anlagerung von Silbernitrat	maßanalytisch
Carbonyl	Umsetzung mit Nitrophenylhydrazinen	gravimetrisch maßanalytisch
O-Alkyl	Hydrolyse mit HJ	maßanalytisch gaschromatographisch
Vinyläther	Umsetzung mit Jod und Alkohol	maßanalytisch
N-Alkyl	Umsetzung mit HJ siehe O-Alkyl	
primäres Amino	Reaktion mit salpetriger Säure	gasvolumetrisch
α-Aminosäuren	a) direkte Titration b) Umsetzung mit Ninhydrin c) Reaktion mit salpetriger Säure	maßanalytisch maßanalytisch gasvolumetrisch
Mercapto	a) Oxydation mit Jod b) Reduktion von Cu(II)	maßanalytisch
Disulfid, Thioäther	Oxydation mit Brom	maßanalytisch

pen in den letzten Jahren erfolgt ist bzw. in nächster Zeit erfolgen wird:

Eine bessere Genauigkeit bei den einzelnen Bestimmungen kann durch Verwendung moderner maßanalytischer bzw. elektrometrischer Titrationsmethoden zur Endbestimmung erzielt werden. Verluste während durchzuführenden Reaktionen können durch den Gebrauch exakt konstruierter Ganzglas- bzw. Schliffgeräte vermieden werden. Automatische Konstanthaltung von Temperaturen, Drucken, Arbeiten im Vakuum, genaues Einhalten verschiedenster Bedingungen usw. bieten beim heutigen Stand der Apparatechnik keine Schwierigkeit. Eine sinnvolle Kombination mit modernsten physikalischen und physikalisch-chemischen Methoden bietet oft völlig neue Möglichkeiten.

Da es unmöglich ist, auf alle bekannten Methoden (Tabelle 1) und deren Entwicklung einzugehen, sollen im folgenden nur einige Beispiele für Bestimmungen funktioneller Gruppen gebracht werden. An diesen soll gezeigt werden, wie seit Jahrzehnten als ausgearbeitet geltende Verfahren durch Anwendung neuer Arbeitstechniken in letzter Zeit wesentlich verbessert wurden bzw. noch weiter entwickelt werden. Ein kurzes Eingehen auf die «historischen Grundlagen» kann dabei nicht vermieden werden.

Die Bestimmung von Alkoxygruppen

Die Methode beruht bekanntlich auf der Beobachtung von ZEISEL¹, daß Substanzen, die an O bzw. an S ge-

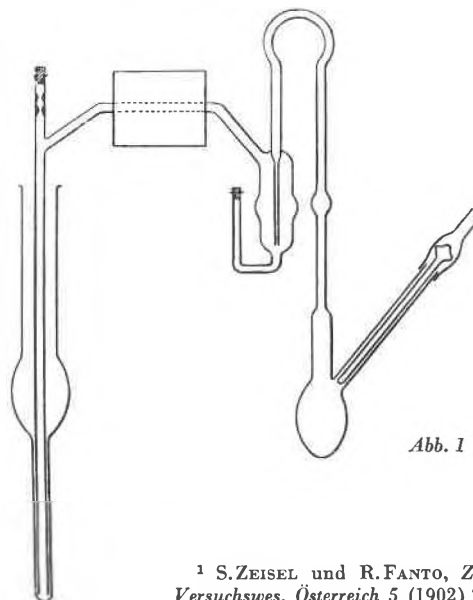


Abb. 1

¹ S. ZEISEL und R. FANTO, Z. landw. Versuchswes. Österreich 5 (1902) 729.

bundene Alkylgruppen besitzen, diese mit siedender Jodwasserstoffsäure quantitativ als Alkyljodid abspalten. Bereits während der Ausarbeitung der Mikroelementaranalyse entwickelte PREGL² ein einfaches Gerät für die Mikromethoxybestimmung nach dem ZEISELschen Prinzip (Abb. 1). Diese einfache Apparatur hat sich jahrzehntelang bewährt, nur wird das entstandene Alkyljodid seit langem nicht mehr gravimetrisch als AgJ, sondern maßanalytisch nach VIEBÖCK und BRECHER³ bzw. LEIPERT⁴ bestimmt.

Von den zahlreichen Modifikationen des PREGLschen Apparates soll hier nur auf die Apparatur von VIEBÖCK und KLINTZ⁵ hingewiesen werden, da diese einige wesentliche Vorteile besitzt (Abb. 2). Man kann mit diesem Gerät ohne weiteres auch im Halbmikromaßstab, d. h. mit 10 bis 50 mg Substanz, arbeiten, ebenso können

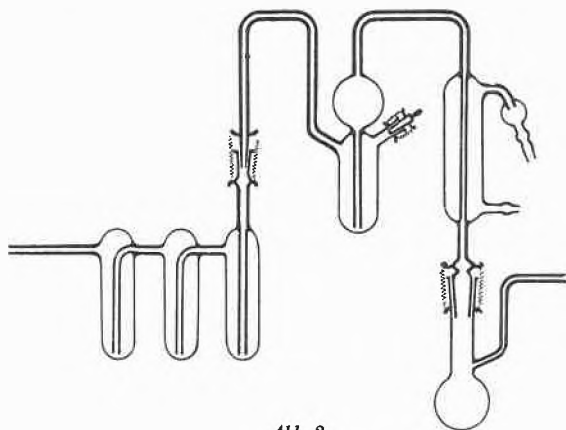


Abb. 2

flüchtige Verbindungen im gleichen Apparat analysiert werden. Das Gerät kann zudem auch noch für N-Alkyl-Bestimmungen verwendet werden. Mechanisch ist diese Apparatur viel stabiler als die ursprüngliche PREGLsche, da als verbindende Rohrteile nur dickwandige Kapillaren verwendet werden.

Die Unterscheidung, ob in einer Verbindung Methoxy-, Äthoxy- oder andere Alkoxygruppen vorhanden sind, konnte aber bisher, auch qualitativ, nicht leicht getroffen werden. Waren zudem verschiedene Alkoxygruppen im Molekül vorhanden, so konnte deren Identifikation bzw. quantitative Bestimmung nebeneinander nur mittels umständlicher Verfahren^{6, 7, 8, 9} vorgenommen werden. Trotz dieser eben erwähnten Nachteile schien aber das Problem der Alkoxygruppenbestimmung gelöst.

² F. PREGL, *Die quantitative organische Mikroanalyse*, 1. Auflage, Berlin 1917.

³ F. VIEBÖCK und C. BRECHER, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 63 (1930) 3207.

⁴ TH. LEIPERT, *Mikrochem., Pregl-Festschrift*, 1929, S. 266.

⁵ In HOPPE-SEYLER/THIERFELDER, *Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse*, 10. Auflage, Band III, Berlin/Göttingen/Heidelberg 1955, S. 298.

⁶ W. KÜSTER und M. MAAG, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 127 (1923) 190.

⁷ R. WILLSTÄTTER und M. UTZINGER, *Ann. Chem.* 382 (1911) 148.

⁸ A. FRIEDRICH, *Mikrochem.* 7 (1929) 185.

⁹ M. FURTER, *Helv. Chim. Acta* 21 (1938) 877.

In jüngster Zeit sind nun zwei Arbeiten von KRATZL und GRUBER¹⁰, sowie VERTALIER und MARTIN¹¹ erschienen, die es durch Verwendung einer neuen Arbeitstechnik, nämlich der Gaschromatographie, gestatten, verschiedene Alkoxygruppen nebeneinander zu identifizieren und zu bestimmen.

Prinzipiell handelt es sich bei diesen Verfahren darum, daß die entstandenen Alkyljodide unter Kühlung zunächst absorbiert werden. Für die folgende gaschromatographische Trennung wird das Absorptionsrohr erwärmt und die Alkyljodide mit Stickstoff in die bereits erwärmte Trennkolonne übergeführt. Die aus der Kolonne mit dem Trägergas ausströmenden Alkyljodide werden einzeln in einem Absorptionsgefäß aufgefangen und anschließend wie üblich nach VIEBÖCK und BRECHER³ maßanalytisch bestimmt. Die Fehlergrenze liegt nach den Angaben der Autoren im üblichen Rahmen.

Die Bestimmung von Acyl- und C-CH₃-Gruppen

Ohne auf die Entwicklung der verschiedenen mikroanalytischen Methoden für die Bestimmung näher einzugehen, sei doch erwähnt, daß bereits PREGL und seine Schule^{12, 13, 14} Verfahren für die Mikroacetylbestimmung beschrieben. Seither sind zahlreiche Modifikationen bzw. Verbesserungen beschrieben worden. Hauptgründe für die ständige Bearbeitung dieser Gruppenbestimmung sind: 1. daß es sehr schwierig, wenn nicht unmöglich ist, ein «universelles» Verseifungsmittel zu finden, und 2. Fehlermöglichkeiten bei der Destillation und anschließenden Titration der entstandenen Essigsäure.

Beruhend auf einem Makroverfahren von KUHN und L'ORSA¹⁵ wurde ferner vor etwa 25 Jahren eine Mikrobestimmung für C-ständige Methylgruppen ausgearbeitet¹⁶. Die Substanz wird dazu in einem Chromschwefel-

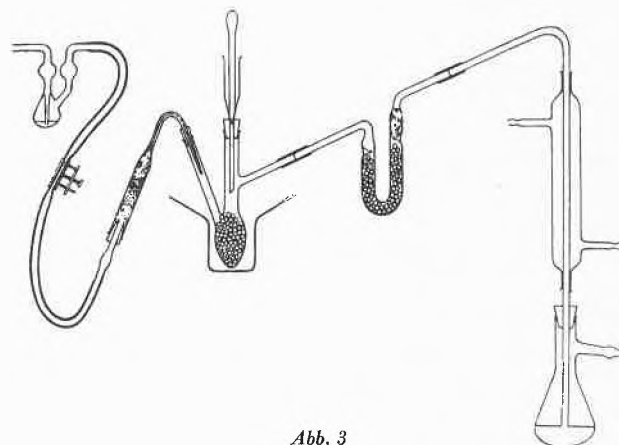


Abb. 3

¹⁰ K. KRATZL und K. GRUBER, *Mh. Chem.* 89 (1958) 618.

¹¹ N. VERTALIER und F. MARTIN, *Chim. Anal.* 40 (1958) 80.

¹² F. PREGL und A. SOLTYS, *Mikrochem.* 7 (1929) 3.

¹³ W. HURKA und H. LIEB, *Mikrochem.* 29 (1941) 258.

¹⁴ W. HURKA, *Mikrochem.* 30 (1942) 30, 31 (1943) 5.

¹⁵ R. KUHN und F. L'ORSA, *Z. angew. Chem.* 44 (1931) 847.

¹⁶ R. KUHN und H. ROTH, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 66 (1933) 1274.

säuregemisch unter Rückfluß erhitzt, wobei die Oxydationsbedingungen so gewählt sind, daß die am C gebundenen Methylgruppen zu Essigsäure abgebaut werden. Das ursprüngliche Destillationsgerät nach PREGL (Abb. 3) wurde schließlich von WIESENBERGER^{17, 18} durch eine völlig neue Apparatur ersetzt, in der sowohl Acetyl- als auch C-CH₃-Gruppen bestimmt werden können (Abb. 4);

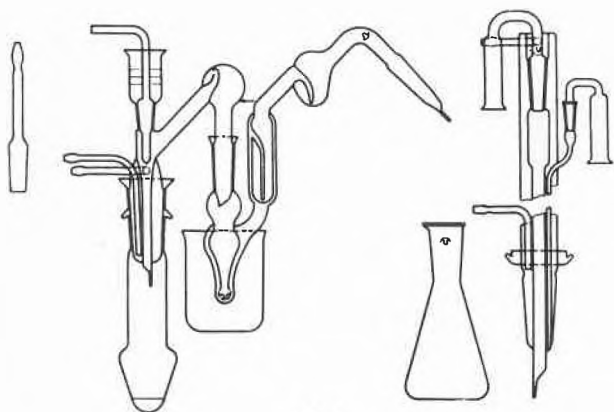


Abb. 4

SCHÖNIGER und Mitarbeiter¹⁹ wiesen ferner darauf hin, daß bei Einhaltung bestimmter Bedingungen, bei beiden Methoden die entstandene Essigsäure in einem Kjeldahl-Apparat quantitativ abdestilliert werden kann.

Seit einigen Jahren hatte es den Anschein, als ob sämtliche Möglichkeiten, die diese Verfahren bieten, erschöpft seien. KARRER und Mitarbeiter^{20, 21, 22} machten nun die Beobachtung, daß bei schneller Oxydation mit verdünnter Chromschwefelsäure und rascher Destillation der Spaltprodukte außer Essigsäure auch andere flüchtige Säuren entstehen, die es gestatten, wertvolle Rückschlüsse auf die zu analysierende Substanz zu ziehen.

Für die Trennung dieser Säuren und deren Identifikation wurde von oben genannten Autoren die Papierchromatographie herangezogen. Man oxydiert und destilliert im WIESENBERGER-Apparat (siehe Abb. 4), neutralisiert das Destillat mit NaOH, engt die Lösung im Vakuum ein und stellt über einen Ionenaustauscher die freien Säuren her. Diese werden in ihre Diäthylaminsalze übergeführt, die konzentrierte Lösung getrennt und die einzelnen Säuren am Chromatogramm identifiziert²³.

Es ist ferner möglich, auch bei dieser Methode die im vorhergehenden Beispiel erwähnte Gaschromatographie zur Trennung zu verwenden^{23a}.

¹⁷ E. WIESENBERGER, *Mikrochem.* 33 (1947) 51.

¹⁸ E. WIESENBERGER, *Mikrochim. Acta* 1954, 127.

¹⁹ W. SCHÖNIGER, H. LIEB und M. G. EL DIN IBRAHIM, *Mikrochim. Acta* 1954, 96.

²⁰ C. F. GARBERS, H. SCHMID und P. KARRER, *Helv. Chim. Acta* 37 (1954) 1336.

²¹ H. BICKEL, H. SCHMID und P. KARRER, *Helv. Chim. Acta* 38 (1955) 664.

²² R. ENTSCHSEL, C. H. EUGSTER und P. KARRER, *Helv. Chim. Acta* 39 (1956) 1263.

²³ B. LINDQUIST und T. STORGÅRDS, *Acta. Chem. Scand* 7 (1953) 87.

^{23a} H. SPINGLER und F. MARKERT, *Mikrochim. Acta* 1959, 122.

Die Bestimmung von Carbonylgruppen

Von den vielen zur Bestimmung der Carbonylgruppe in der Literatur^{24, 25} angegebenen Methoden sind nur wenige zu einem Mikroverfahren entwickelt worden. Die Problematik einer Gruppenbestimmung ist in diesem Fall besonders klar erkenntlich, da es sich ja darum handelt, im Idealfall eine Methode zu finden, mit welcher sowohl Aldehyde als auch Ketone erfaßt werden können. Die meisten der in der Fachliteratur beschriebenen Methoden beruhen auf der Additionsfähigkeit der Carbonylgruppe, d.h. auf der Bildung von Oximen, Hydrazonen und Semicarbazonen. Man bestimmt entweder das entstandene Derivat oder das überschüssige Reagens²⁶.

Lange Zeit war nur die Mikromethode von FALKENHAUSEN²⁷ bekannt.

In einer Apparatur, die der für die Bestimmung des aktiven Wasserstoffes ähnlich ist (Abb. 5), wird die Substanz mit überschüssigem Phenylhydrazin umgesetzt. Das nicht zur

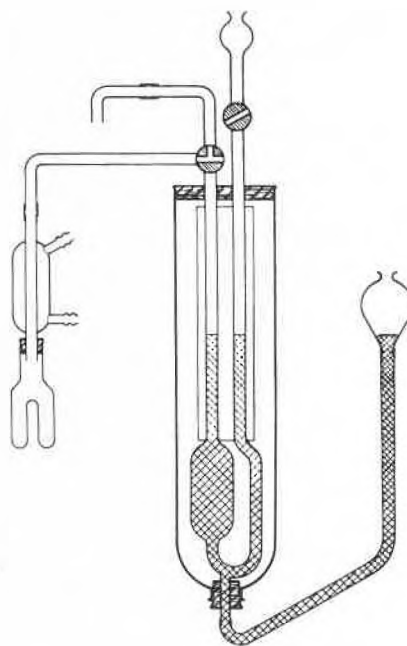


Abb. 5

Hydrazonbildung verwendete Reagens wird durch Reaktion mit Fehlingscher Lösung als Stickstoff gasvolumetrisch bestimmt. Dieses Verfahren ist umständlich, nur beschränkt anwendbar und mit vielen Fehlerquellen behaftet. Es konnte sich daher nicht durchsetzen.

Durch die Verwendung von nitrosubstituierten Phenylhydrazinen ist es in jüngster Zeit gelungen, eine einfache Mikromethode zu entwickeln, die sowohl in apparativer Hinsicht wesentlich besser als die oben erwähnte

²⁴ J. MITCHELL jr., in *Organic Analysis*, Band I., New York/London 1953, S. 243.

²⁵ J. G. P. FARR, *Ind. Chemist* 31 (1955) 464.

²⁶ T. S. MA, J. LONGUN und P. P. MAZELLA, *Microchem. J.* 1 (1957) 67.

²⁷ F. V. FALKENHAUSEN, *Z. anal. Chem.* 99 (1934) 241.

ist als auch, chemisch gesehen, universeller anwendbar ist. Zudem ist es möglich, die Endbestimmung entweder bei Serienuntersuchungen volumetrisch oder bei Einzelbestimmungen gravimetrisch vorzunehmen. Bei beiden Verfahren können die quantitativ gesammelten Hydrazone für Schmelzpunktsbestimmungen und die Ermittlung anderer physikalischer Konstanten verwendet werden.

Bei der volumetrischen Bestimmung^{28,29,30} wird die zu untersuchende Substanz mit einer nitrosubstituierten Phenylhydrazinlösung bekannten Gehaltes umgesetzt. Das nicht zur Hydrazonbildung verbrauchte Reagens wird mit Titantri-

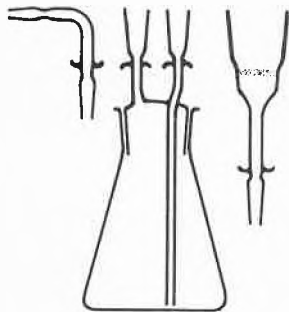


Abb. 6

²⁸ W. SCHÖNIGER und H. LIEB, *Mikrochem.* 38 (1951) 165.

²⁹ W. SCHÖNIGER, H. LIEB und K. GASSNER, *Mikrochim. Acta* 1953, 434.

³⁰ PREGL-ROTH, *Quantitative organische Mikroanalyse*, 7. Auflage, Wien 1958, S. 260.

chloridlösung reduziert und dessen Überschuß mit Eisen-III-ammoniumsulfat maßanalytisch erfaßt.

Bei der gravimetrischen Endbestimmung²⁶ wird die gelöste Substanz ebenfalls mit einer überschüssigen 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung versetzt. Das Reagens wird entfernt und schließlich der Gehalt an CO-Gruppen mittels einer genauen Wägetechnik gravimetrisch bestimmt.

Schlußbemerkungen

Die eben gebrachten Beispiele sollen zeigen, in welcher Richtung die Entwicklung von «klassischen» Methoden verlaufen ist bzw. kann. Es ist damit aber nicht gesagt, daß in nächster Zukunft nicht ganz neue Verfahren für die Bestimmung funktioneller Gruppen ausgearbeitet werden können. Es ist sehr unwahrscheinlich, daß völlig neue chemische Prinzipien aufgefunden werden. Es wird aber bestimmt möglich sein, die zahlreichen meist physikalischen Verfahren, die in den letzten Jahren sehr vervollkommenet wurden und daher auch eine immer allgemeinere Anwendung finden, im vermehrten Maße für Gruppenbestimmungen heranzuziehen. Schon jetzt sind z. B. qualitative und quantitative Gruppenbestimmungen durch IR- und UV-Spektroskopie möglich.

Es ist andererseits aber als sicher anzunehmen, daß die chemischen Mikromethoden, die beinahe vor fünf Jahrzehnten von PREGL zum Teil empirisch entwickelt und seither weitgehend ausgearbeitet und theoretisch fundiert worden sind, ihre Bedeutung in der analytischen Laboratoriumspraxis auch weiterhin beibehalten werden.