

Über physikalische Methoden im chemischen Laboratorium. XXXVIII.\*)

## Mikroskopische Methoden zur Identifizierung organischer Substanzen\*\*)

Von Prof. Dr. L. KOFLER, Pharmakognostisches Universitätsinstitut Innsbruck

Eingeg. 27. August 1938

**M**ikroskopische Methoden werden seit Jahrzehnten zum Nachweis organischer Substanzen empfohlen. Es gibt darüber eine ausgedehnte, in Zeitschriften und mehreren Monographien niedergelegte Literatur. Trotzdem blieb die mikroskopische Arbeitsweise nahezu ausschließlich eine „mikrochemische“ Methode, die nicht selten fast als Selbstzweck betrieben wurde und wenig Eingang in die chemischen Laboratorien fand.

In Wirklichkeit würden aber einige mikroskopische Methoden weiteste Anwendung verdienen, nicht nur bei Mangel an Substanz, sondern auch dort, wo genügend Untersuchungsmaterial zur Verfügung steht. Denn die mikroskopischen Methoden sind häufig einfacher und rascher durchzuführen und verraten mehr kennzeichnende Eigenschaften als die Makromethoden.

Das gilt in erster Linie von der Bestimmung des **Schmelzpunktes**. Bei der üblichen Arbeitsweise im Capillarröhrchen kann man die Höhe des Schmelzpunktes feststellen, seine Schärfe oder Unschärfe und einzelne Zersetzungerscheinungen, aber wenig mehr. Sehr viel mehr kennzeichnende Eigenschaften sieht man bei der Schmelzpunktbestimmung zwischen Deckglas und Objektträger unter dem Mikroskop, wobei man das Verhalten jedes einzelnen Kriställchens oder Partikelchens vor, beim und nach dem Schmelzen genau verfolgen kann (L. u. A. Kofler)<sup>1)</sup>.

Im einfachsten Fall bleiben die Substanzen vor dem Schmelzen unverändert. Bei der Temperatur des Schmelzpunktes zerfließen zuerst die kleinsten Splitter, dann folgen die größeren Kristalle, bei denen man ein Abrunden der Ecken und Kanten und ein allmähliches Zerfließen beobachtet. Einen solchen Schmelzvorgang zeigen die nebenstehenden Bilder beim Anästhesin (Abb. 1—4). Für ein mittelgroßes Kriställchen läßt sich ein Gewicht von ungefähr

$\frac{1}{200000000}$  g berechnen. Bei 89° sieht man die unveränderten Kristalle, bei 90° den Beginn des Schmelzens, bei 90,5° den Schmelzvorgang und bei 91° die Schmelztropfen. Als Schmelzpunkt wird bei dieser Bestimmung 90,5° abgelesen.

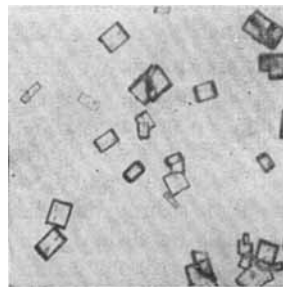


Abb. 1. Bei 89°

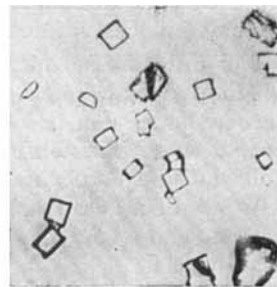


Abb. 2. Bei 90°

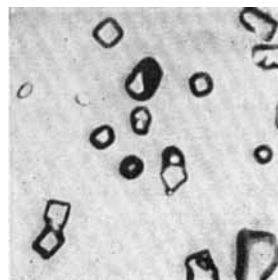


Abb. 3. Bei 90,5°

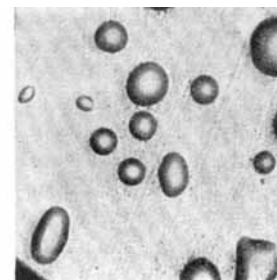


Abb. 4. Bei 91°

Abb. 1—4. Schmelzen von Anästhesin unter dem Mikroskop. Vergr. 55fach.

Sorgt man durch Verwendung von etwas mehr Substanz für größere Schmelztropfen und stellt die Heizung des Apparates ab, bevor die Substanz ganz geschmolzen ist, so beginnen die vorhandenen Reste zu wachsen, um bei neuerlichem Erhitzen wieder abzuschmelzen (Abb. 5—8). Auf diese Weise kann man bei vielen unzersetzt schmelzen-

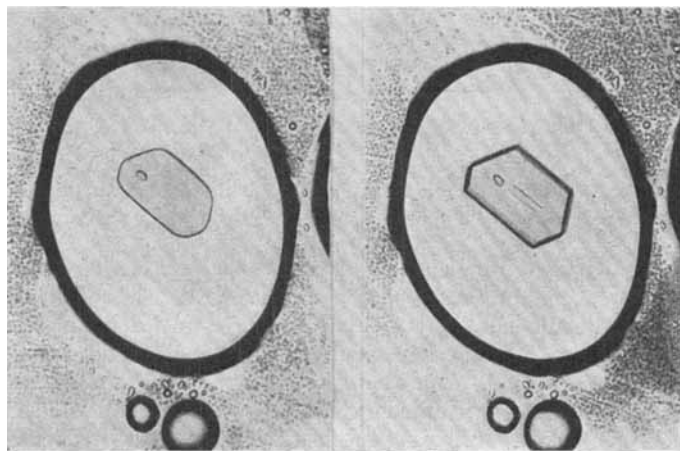


Abb. 5. Knapp vor dem vollständigen Schmelzen.

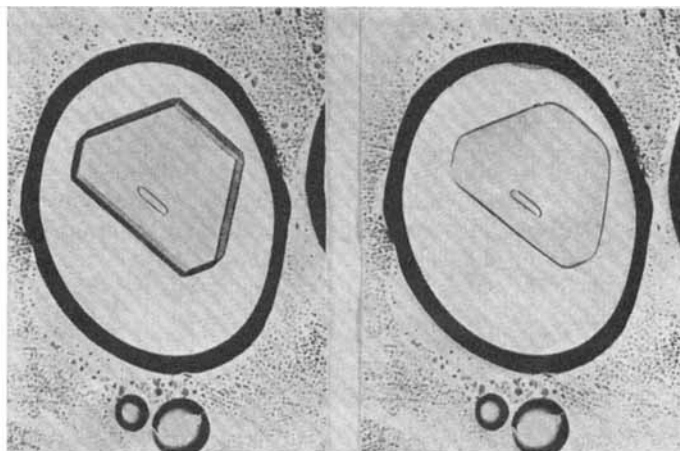


Abb. 6. Bei schwachem Abkühlen beginnt der Kristallrest wieder zu wachsen.

Abb. 7. Neuerliches Erhitzen bringt ihn wieder z. Schmelzen.

Der große Tropfen mit dem Kristall ist zwischen Objektträger und Deckglas ausgespannt; die kleineren Tropfen ringsherum haften nur am Deckglas, ohne den Objektträger zu berühren. Cardiazol. Vergr. 140fach.

den Substanzen das Gleichgewicht zwischen fester und flüssiger Phase einstellen und den Schmelzpunkt sehr genau bestimmen. Die Beobachtung, ob bei geringem Abkühlen ein Wiederauskristallisieren und in welcher Form erfolgt, ist für manche Substanzen kennzeichnend.

Nur wenige Stoffe bleiben vor dem Schmelzen ganz unverändert. Bei den meisten sieht man während des Erhitzens vor dem Erreichen des Schmelzpunktes mannigfache Veränderungen, die darin bestehen, daß die Substanz sich umlagert und vor allem, daß sie vom Objektträger an die Unterseite des Deckglases sublimiert. Diese Sublimation kann erst unmittelbar vor Erreichen des Schmelzpunktes oder schon viele Grade vorher erfolgen. Das Aussehen und die Form dieser Kristalle ist sehr verschieden, neben kristallinen Sublimaten kommen auch Tröpfchen vor. In manchen Fällen sublimiert nur ein Teil, in anderen die Gesamtmenge der Substanz an das Deckglas.

Bei Substanzen mit Kristallflüssigkeit offenbart die Mikromethode nicht selten Tatsachen, die bei der Makromethode der Beobachtung entgehen. Das Verschwinden der Kristallflüssigkeit verrät sich häufig dadurch, daß die vorher klaren Kristalle trüb und undurchsichtig werden. Oft schmelzen aber lösungsmittelhaltige Kristalle schon vor dem Entweichen der Flüssigkeit und erstarren nicht selten bei weiterem Erhitzen nach Verdampfen der Flüssigkeit zu flüssigkeitsfreien Kristallen, die dann beim Schmelzpunkt der lösungsmittelfreien Substanz schmelzen. Durch mikroskopische Schmelzpunktbestimmung konnten schon viele Literaturangaben richtiggestellt werden. Beispielsweise wird der Schmelzpunkt des wasserfreien Kodeins mit  $155^{\circ}$ , der des kristallwasserhaltigen mit  $153^{\circ}$  angegeben. In Wirklichkeit schmilzt, wie man sich unter dem Mikroskop leicht überzeugen kann, das wasserhaltige Kodein zwischen  $64^{\circ}$  und  $67^{\circ}$ .

Bei zersetzlichen Substanzen empfiehlt *Kempf*<sup>2)</sup>, mit einer Lupe sorgfältig auf die das Schmelzen begleitenden Erscheinungen zu achten. Er bezeichnet diese Begleitumstände, z. B. Bräunung, Aufschäumen, Hochklettern der blasenwerfenden Flüssigkeit im Capillarröhrchen, als häufig durchaus charakteristisch für eine Verbindung, ja manchmal typisch für ganze Körperklassen. Es ist selbstverständlich, daß sich die Begleitumstände der Zersetzung unter dem Mikroskop sehr viel besser verfolgen lassen als im Capillarröhrchen. Daher ist auch hier die Mikromethode in vielen Fällen dem Makroverfahren überlegen, sie hat sich beispielsweise bei den einfachen und zusammengesetzten Mutterkornalkaloiden sehr gut bewährt (*A. Kofler*<sup>3)</sup>).

Die Mikroschmelzpunktbestimmung führt häufig zur Auffindung **neuer Modifikationen**, auch wenn nicht eigens darnach gesucht wird. Auf diese Weise wurde die Polymorphie des Veronals, Morphins, Atophans, Luminals, Nipagins, 8-Oxychinolins und vieler anderer Substanzen entdeckt<sup>4)</sup>. *Weygand*<sup>4)</sup> benützt für seine systematischen Polymorphieforschungen ebenfalls eine Mikroschmelzpunkteinrichtung. Er beschäftigt sich mit den Erstarrungsvorgängen der auf dem Heiztisch geschmolzenen Substanzen und verweist auf die „beispiellose Fülle allein von qualitativ erfassbaren spezifischen Erscheinungen, daß dem auch nur einigermaßen Geübten die Wiedererkennung und Unterscheidung zahlloser Substanzen mit Leichtigkeit und in kürzester Zeit, ohne jede besondere Vorbereitung gelingt: Ein Blick in das Mikroskop sagt z. B. fast immer mehr als die Mischprobe bei der Schmelzpunktbestimmung, und gerade die Mischprobe selbst wird durch Übertragung auf das Mikroskop in ihrem Wert erheblich gesteigert“. Während *Weygand*

sich mit den Vorgängen beim Wiedererstarren, also mit den Erscheinungen nach dem Schmelzen beschäftigt, haben wir seit vielen Jahren vor allem auf die Erscheinungen vor dem Schmelzen, auf die dabei beobachteten Sublimationsvorgänge und die mannigfachen Formen und Umwandlungen hingewiesen und immer wieder betont, daß diese Vorgänge für viele Substanzen sehr charakteristisch und für die Diagnose sehr wertvoll sind. Trotzdem konnte bisher die mikroskopische Methode die Makromethode nur in wenigen Laboratorien verdrängen. Vielleicht ist es gerade die Überfülle der beschriebenen und abgebildeten Formen, die manche Chemiker abschreckt und sie befürchten läßt, daß ein Zurechtfinden unter allen diesen Bildern eine große Übung und Erfahrung erfordere.

Die meisten Chemiker sind im allgemeinen gewohnt, im Schmelzpunkt eine sicher reproduzierbare Zahl zu sehen und lassen sich schwer überreden, zur Schmelzpunktbestimmung das Mikroskop heranzuziehen.

Es läßt sich nun mit dem Schmelzpunkt unter dem Mikroskop noch ein zweiter kennzeichnender Wert bestimmen, das ist der **Brechungsexponent der Schmelze**. Zu diesem Zweck versetzt man das mikroskopische Präparat der zu prüfenden Substanz mit ein paar Stäubchen eines Glaspulvers von bekanntem Brechungsexponenten und vergleicht den Index der Schmelze mit dem der Glassplitter. Hierzu haben wir (*Kofler* u. *Rueß*<sup>5)</sup>) in Anlehnung an *Linck* und *Koehler*<sup>6)</sup> eine Skala von 24 Pulvern mit folgenden Brechungsexponenten zusammengestellt, deren Abstand durchschnittlich 0,01 beträgt.

1,4339	1,4937	1,5502	1,6128
1,4450	1,5000	1,5609	1,6229
1,4584	1,5101	1,5700	1,6346
1,4655	1,5203	1,5794	1,6482
1,4713	1,5301	1,5898	1,6593
1,4791	1,5400	1,6010	1,6718

Alle diese Pulver bestehen aus Glas, nur 1,4339 ist Flußspat und 1,4584 Quarzglas.

Glassplitter, die den gleichen Brechungsexponenten haben wie die Schmelze der zu untersuchenden Substanz, sind in der Schmelze unsichtbar. Ob ein zuerst wahllos aus der Glaspulverskala herausgegriffenes Glaspulver höher

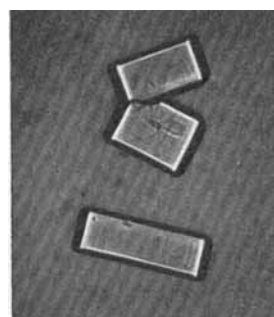


Abb. 9.  
Beim Heben des Tubus.

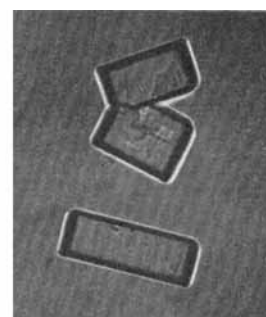


Abb. 10.  
Beim Senken des Tubus.

Kristalle, die stärker lichtbrechend sind als die Einbettungsflüssigkeit. Vergr. 100fach.

oder niedriger brechend ist als die Schmelze, erkennt man an der sogenannten *Beckeschen Linie*, das ist die helle Linie, die die Glassplitter umsäumt. Je nachdem, ob die Glassplitter höher oder niedriger brechend sind als die Schmelze, verhält sich die Lichtlinie beim Bewegen des Mikroskoptubus verschieden. Die *Beckesche Linie* wandert beim Heben des Mikroskoptubus gegen das höher brechende Medium (Abb. 9 u. 10). Die *Beckesche Lichtlinie* erscheint um so deutlicher und heller, je größer die Differenz der

<sup>2)</sup> R. Kempf in „Die Methoden der organischen Chemie“, herausgegeben von J. Houben, I. Bd., S. 786 [1925].

<sup>3)</sup> A. Kofler, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 274, 389 [1936]; 275, 455 [1937]; 276, 40 [1938].

<sup>4)</sup> C. Weygand, diese Ztschr. 49, 243 [1936].

<sup>5)</sup> L. Kofler u. H. Rueß, Chem. d. Erde 11, 590 [1938].

<sup>6)</sup> G. Linck u. E. Koehler, ebenda 4, 458 [1930].

Brechungsindices der beiden Medien ist. Bei vollständiger Gleichheit (Farblosigkeit der Medien vorausgesetzt) verschwindet die *Beckesche Linie* vollkommen, die Glassplitter sind von der Schmelze nicht mehr zu unterscheiden.

Zur Vermeidung der störenden Dispersion empfiehlt es sich, in monochromatischem Licht zu arbeiten, was durch Einschaltung eines Lichtfilters erreicht wird. Wir legen ein helles Rotfilter auf den Filterhalter des Mikroskops.

Nach dem bisher Gesagten könnte man zwei Pulver der Skala suchen, zwischen denen der Brechungsexponent der Schmelze liegt. In Wirklichkeit kann man jedoch den Brechungsexponenten der Schmelze viel genauer ermitteln. Dies beruht auf der bekannten Tatsache, daß der Brechungsexponent der Flüssigkeiten mit zunehmender Temperatur abnimmt, während der Brechungsindex der Gläser dabei praktisch unverändert bleibt. Von den beiden Gläsern, deren Index dem der geschmolzenen Substanz am nächsten kommt, wählt man das Glas mit dem niedrigeren Index. Unmittelbar nach dem Schmelzen wird die Schmelze höher brechend sein als die Glassplitter, bei weiterem Erhitzen nimmt der Brechungsindex der Schmelze ab, die *Beckesche Lichtlinie* und somit die Glassplitter werden immer undeutlicher, um schließlich vollständig zu verschwinden. Bei weiterem Temperaturanstieg tauchen die Glassplitter wieder auf, die *Beckesche Linie* zeigt jedoch das umgekehrte Verhalten wie vorher, sie wandert beim Heben des Tubus gegen die Glassplitter, die Schmelze ist jetzt also niedriger brechend geworden. Das Resultat wird dann beispielsweise folgendermaßen angegeben: „1,6010 bei 122—124°“, d. h. bei 122° sind die Glassplitter eben noch als niedriger brechend erkennbar, bei 123° sind sie in der Schmelze unsichtbar und bei 124° tauchen sie als höher brechend wieder auf. Der Umschlag kann sehr scharf sein und sich im Bereich eines einzigen Temperaturgrades abspielen, er kann sich aber auch über mehrere Grade hinziehen. Dies hängt

unter anderem von der Höhe des Temperaturkoeffizienten der betreffenden Substanz ab.

Die **Temperaturkoeffizienten** ermittelt man, indem man eine zweite Bestimmung mit dem nächst niedrigeren Glaspulver durchführt, wobei man die Schmelze nun wesentlich höher erhitzen muß. Das Ergebnis beim Resorcin (Fp. 110,5°) ist beispielsweise 1,5502 bei 123° und 1,5400 bei 155—157°; Temperaturkoeffizient ist daher 0,00031. Alle bisher ermittelten Koeffizienten verschiedener Substanzen liegen zwischen 0,00026 und 0,00061.

Die Bestimmung des Temperaturkoeffizienten setzt voraus, daß die Substanz nicht allzu leicht flüchtig ist und vor allem, daß sie ein Erhitzen weit über den Schmelzpunkt hinaus verträgt, ohne sich zu zersetzen. Zersetzung bald nach dem Schmelzen verhindert bei manchen Substanzen sogar die genaue Ermittlung des einfachen Brechungsexponenten mit dem nächstliegenden Glaspulver. Man beobachtet in solchen Fällen eine Änderung des Brechungsexponenten während des Erhitzens und muß sich dann mit einem annähernden Wert oder mit der Angabe begnügen, daß der Index zwischen zwei benachbarten Gläsern der Skala liegt.

Wir haben begonnen, **Listen** von organischen Substanzen aufzustellen, geordnet nach der Höhe der Mikroschmelzpunkte. Außer dem Mikroschmelzpunkt und dem Namen der Substanz enthalten die Listen die Brechungsexponenten der Gläser und die zugehörigen Temperaturen, den Temperaturkoeffizienten und kennzeichnende Eigenschaften, die bei der Mikroschmelzpunktbestimmung auffallen. Diese Listen verfolgen den gleichen Zweck wie die bekannten Schmelzpunkttabellen, sie sollen eine rasche Auffindung und sichere Identifizierung organischer Substanzen ermöglichen. Beides wird, wie wir hoffen, durch diese Listen erreicht, sobald sie eine gewisse Vollständigkeit erlangt haben.

Die folgende Tabelle bringt als Beispiel einen Ausschnitt aus diesen Listen.

Fp.	Substanz	Brechungsindex des Glases	Temperatur	Temperaturkoeffizient	Besondere Kennzeichen
95°	Benzil .....	1,5700 1,5609	99° 118—119°	0,00047	Gelb, ab 85° größtenteils Kondensations-tröpfchen. Gleichgewicht: Stengel mit spitzen Enden.
95,5°	$\alpha$ -Naphthol .....	1,6229 1,6128	89—90° 111—112°	0,00046	Ab 80° langgestreckte, rechteckige Sublimate, später auch Tröpfchen. Gleichgewicht: Rechteckige Kristalle.
96°	m-Nitrophenol .....	1,5502 1,5400	124—126° 151—153°	0,00037	Ab 65° schiefwinkelige Stäbchen und Prismen.
97°	Nipasol .....	1,5101 1,5000	98—101° 123—125°	0,00041	Ab etwa 90° Kondensationströpfchen. Gleichgewicht: Prismatische Kristalle. Erstarrte Schmelze: Viele Kristallisationszentren, regellos angeordnete Kristallmasse.
97,5°	Cocain .....	1,5000 1,4937	104—105° 122—124°	0,00034	Gleichgewicht: Langprismatische Kristalle.
99°	Phenanthren .....	1,6593 1,6482	99° 125—127°	0,00041	Ab 80° Kondensationströpfchen, ab 95° vereinzelte lappige, dünne Blättchen. Gleichgewicht: Lappige, unregelmäßige Scheiben.
101°	Methylacetanilid .....	1,4937	113—115°		Ab 65° kurzprismatische Sublimate. Erstarrte Schmelze: Grobstrahlige Sphärolithe.
101°	o-Phenylendiamin .....	1,5898	118—119°		Ab 60° kurze Prismen und rechteckige Blättchen, Schmelze wird rasch gelb.
102°	Novocainnitrat .....	1,5502 1,5400	114—116° 154°	0,00026	Schmelze erstarrt zäh, glasig.
103—105°	Sparteinsulfat .....	1,5101— 1,5203			In der Schmelze bleiben Kristalle zurück, die sich erst bei etwa 130—140° auflösen.
104°	Brenzcatechin .....	1,5400 1,5301	112—114° 128—129°	0,00064	Ab 75° prismatische und rechteckige, blättchenförmige Sublimate.
104—107°	Hyoscyamin .....	1,5101	114—117°		Ab etwa 100° winzige, nadelförmige Sublimate, Schmelze erstarrt glasig, nach neuerlichem Erwärmen auf etwa 90° Kristallisation: Feinnadelige, pelzartige Kristallmasse.
105°	p-Nitrobenzaldehyd .....	1,5502 1,5301	100° 140—142°	0,00049	Gelb. Ab 75° spießförmige und kurzprismatische Kristalle, ab 100° auch Kondensations-tröpfchen.

In den letzten Kolonnen sind als besondere Kennzeichen die vor, beim und nach dem Schmelzen auffallenden Erscheinungen kurz beschrieben. Die Temperaturangaben über das Auftreten von Sublimaten setzen eine bestimmte Geschwindigkeit des Temperaturanstieges voraus. Die Heizung des Mikroschmelzpunktapparates wird so eingestellt, daß der Temperaturanstieg im Bereich des Schmelzpunktes ungefähr  $4^{\circ}$  in der Minute beträgt. Am Regulierwiderstand des Apparates ist zu diesem Zweck eine Temperaturskala angebracht. Der Ausdruck „Gleichgewicht“ in der Liste bezieht sich auf die eingangs erwähnte und abgebildete Einstellung des Gleichgewichtes zwischen festem Körper und Schmelze. In der Liste ist hinter dem Wort Gleichgewicht kurz das Aussehen der Kristalle beschrieben, zu denen die Restkristalle beim schwachen Abkühlen des „Gleichgewichtes“ heranwachsen.

Der Zeitaufwand für die Schmelzpunktbestimmung unter dem Mikroskop ist infolge des rascheren Erhitzungstempos nur ungefähr halb so groß wie für die übliche Bestimmung im Röhrchen. Der Brechungsexponent läßt sich anschließend in 2–3 min bestimmen, wenn ein Anhaltspunkt für eine bestimmte Substanz vorliegt. Ist dagegen kein Hinweis vorhanden, muß man also in der Skala nach dem richtigen Pulver suchen, so sind mehrere Bestimmungen notwendig. Man beginnt mit einem Pulver in der Mitte der Skala und kommt bei einiger Übung mit drei oder höchstens vier Versuchen zum Ziel.

Die Sicherheit der Identifizierung ist eine sehr große, denn es ist nicht zu erwarten, daß zwei verschiedene Substanzen den gleichen Schmelzpunkt haben, in der Schmelze bei der gleichen Temperatur den gleichen Brechungsexponenten aufweisen und vor, beim und nach dem Schmelzen ein übereinstimmendes mikroskopisches Bild zeigen.

Die gesamte Arbeitsweise ist leicht zu erlernen und einfacher durchzuführen als andere Identifizierungsmöglichkeiten. In letzter Zeit beobachteten wir, daß Studenten aus dem chemischen oder pharmazeutisch-chemischen Laboratorium in unser Institut kamen und in unrechtmäßiger Weise mikroskopische Methoden benutzten, um rasch die Substanzen zu erkennen, die sie zur Elementaranalyse erhalten hatten oder die sie auf dem üblichen Wege hätten identifizieren sollen.

Für die Mikroschmelzpunktbestimmung steht jetzt eine einfach zu handhabende **Apparatur** zur Verfügung. Die ersten derartigen Einrichtungen wurden schon vor Jahrzehnten konstruiert, meist jedoch für bestimmte Spezialzwecke, wie im Jahre 1875 das Ölbadmikroskop und später das Kristallisationsmikroskop von *Lehmann*<sup>7)</sup>. Größere Verbreitung und Eingang in manche Laboratorien fand der Mikroschmelzpunktapparat von *Klein*<sup>8)</sup>, der sich bei der Nachprüfung jedoch als ungenau erwies.

*Weygand*<sup>9)</sup> benützt für seine Polymorphieuntersuchungen eine von ihm konstruierte, von den Optischen Werken Leitz in den Handel gebrachte Apparatur. An diesem Heiztisch ist zwar ein Thermometer angebracht, für exakte Temperaturmessungen empfiehlt *Weygand* jedoch, die Temperaturdifferenz zwischen dem Schmelzpunkt einer Testsubstanz und dem der Probe zu ermitteln. Er bezeichnet dieses Verfahren als das einzig kunstgerechte bei der mikroskopischen Schmelzpunktbestimmung. Zweifellos lassen sich mit Hilfe von Testsubstanzen genaue mikroskopische Schmelzpunktbestimmungen durchführen. Es ist aber nicht leicht, die notwendigen Testsubstanzen für alle Temperaturbereiche zusammenzubekommen. Außerdem ist das Arbeiten mit Testsubstanzen wesentlich umständlicher als die unmittelbare Temperaturablesung an einem Thermometer oder Millivoltmeter. Es ist daher kaum zu erwarten, daß diese Arbeitsweise an Stelle der üblichen Makroschmelzpunktbestimmung allgemein Eingang in die Laboratorien findet.

Für die allgemeine Verwendung wird die unmittelbare Temperaturablesung wohl kaum zu umgehen sein. Der von uns beschriebene und seit Jahren erprobte Mikroschmelzpunktapparat wurde zuerst (gemeinsam mit *Hilbck*<sup>10)</sup>) nur für thermoelektrische Temperaturablesung und später auch für Thermometermessung eingerichtet<sup>11)</sup>.

Die thermoelektrische Temperaturmessung hat sich zwar gut bewährt, durch den hohen Preis des hierzu notwendigen Millivoltmeters wurde jedoch eine weite Verbreitung der Apparatur gehemmt. Wir nahmen deshalb die Versuche mit dem Thermometer wieder auf. Die Schwierigkeit bei der Thermometerablesung liegt darin, das Thermometer unter die gleichen Bedingungen zu bringen wie das zu schmelzende mikroskopische Präparat, so daß das Thermometer wirklich dieselbe Temperatur anzeigt wie die Schmelzsubstanz. Bei Verwendung von fertigen Thermometern ist diese Voraussetzung unbedingt notwendig, aber nur schwer zu verwirklichen. Meist gelingt es nur für einen bestimmten begrenzten Temperaturbereich Übereinstimmung zwischen der Temperatur des mikroskopischen Präparates und der des Thermometers zu erreichen, während in anderen Temperaturbereichen unrichtige Werte abgelesen werden. Diese Schwierigkeit läßt sich dadurch umgehen, daß man ein Thermometer ohne Temperaturskala heranzieht und die Temperaturskala auf dem Apparat festlegt. Zu diesem Zwecke schmilzt man Substanzen mit genau bekanntem scharfen Schmelz-

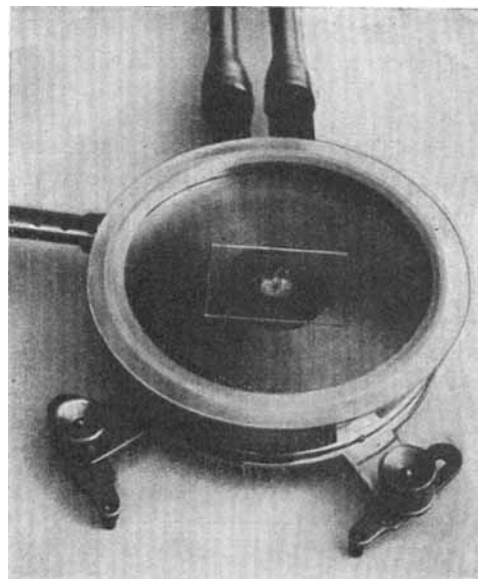


Abb. 11. Mikroschmelzpunktapparat mit Thermometerablesung. Links sieht man ein Stück des herausragenden Thermometers. Der Apparat wird auf den Objekttisch des Mikroskopes aufgesetzt.

punkt und zeichnet auf dem Thermometer entsprechende Temperaturmarken an, um dann durch Interpolation eine Temperaturskala anzubringen, so wie auf jedem anderen Thermometer. Durch diesen Kunstgriff wird erreicht, daß das Thermometer genau die Temperatur anzeigt, die zwischen Objektträger und Deckglas, also an der Stelle herrscht, an der sich die zu schmelzende Substanz befindet. Ob die Temperatur in dem das Thermometer aufnehmenden Kanal und auf dem Objektträger wirklich die gleiche ist oder nicht, ist bei dieser Art des Vorgehens ohne Belang. Wir benützen zwei Thermometer, eines für den Temperaturbereich bis ungefähr  $240^{\circ}$  und eines für die höheren Temperaturbereiche bis ungefähr  $340^{\circ}$ . Diese Mikroschmelzpunktapparate liefern mindestens ebenso genaue Werte wie die üblichen Makroschmelzpunktbestimmungen<sup>12)</sup> (Abb. 11).

Die Mikroschmelzpunktbestimmungen führt man in der Regel zweckmäßig bei durchfallendem Licht aus, wobei im Bedarfsfalle auch im polarisierten Licht zwischen gekreuzten Nikols beobachtet werden kann. Auch die Bestimmung der Brechungsexponenten der Schmelzen erfordert durchfallendes Licht. Infolgedessen ist der vor kurzem von *Fuchs*<sup>13)</sup> beschriebene und im Handel befindliche Mikroschmelzpunktapparat, der nur die Beobachtung im auffallenden Licht gestattet, nicht zu empfehlen. Ein von uns geprüfter derartiger Apparat ergab außerdem bei der Temperaturablesung Fehler von mehreren Graden.

<sup>10)</sup> L. Kofler u. H. Hilbck, *Mikrochemie* 9, 38 [1931].

<sup>11)</sup> L. Kofler, ebenda 15, 242 [1934].

<sup>12)</sup> Die Mikroschmelzpunktapparate und die Glaspulverskala sind im Handel.

<sup>13)</sup> L. Fuchs, *Mikrochimica Acta* 2, 317 [1937].

<sup>7)</sup> O. Lehmann: Das Kristallisationsmikroskop, Braunschweig 1910.

<sup>8)</sup> G. Klein, *Mikrochemie*, *Pregl-Festschrift* 192 [1929].

<sup>9)</sup> O. Weygand u. W. Gruentzig, *Mikrochemie* 10, 1 [1931].

**Kristallographische Bestimmungen** leisten noch mehr für die Identifizierung als die bisher beschriebenen Methoden. Der optische Charakter, die Auslöschung, der Achsenwinkel, das Kristallsystem und die Brechungsindices sind gut kennzeichnende Merkmale. Aber auch diese, vom Standpunkt des Kristallographen nicht erschöpfenden Untersuchungen, erfordern kristalloptische Kenntnisse und Erfahrungen. Kaum ein Gebiet der chemischen Literatur weist so viele Fehler auf wie die kurzen kristalloptischen Angaben, die man bei vielen organischen Substanzen findet. Manchmal springen die Widersprüche ohne weiteres in die Augen. Z. B. enthält der für das Kodein und manche andere Substanzen gebrauchte Ausdruck „rhombisches Oktaeder“ einen Widerspruch in sich, denn ein Oktaeder ist ein regelmäßiges Polyeder, das im rhombischen System unmöglich ist. Prüft man die Angaben des Schrifttums nach, so entdeckt man auch bei sehr bekannten Substanzen zahlreiche Fehler<sup>1)</sup>.

Um die Brechungsindices  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  zu bestimmen, muß man die Lage der Kristalle kennen. Nichtbeachtung dieser selbstverständlichen Voraussetzung hat schon viele Irrtümer verursacht.

Zur Umgehung dieser Schwierigkeit wurde von *Schroeder van der Kolk* empfohlen, das Hauptaugenmerk auf die größten und kleinsten Brechungsindices zu legen und diese an einer größeren Anzahl von Kristallsplittern zu bestimmen. Auch *Kley* hat diese Methode unter Berücksichtigung der Farbenzerstreuung geübt. Es wurden von einigen Autoren nach der Höhe der so bestimmten und auf zwei Dezimalen abgekürzten Brechungsindices und nach dem Grad der Doppelbrechung Tabellen zusammengestellt, die zur Identifizierung der einzelnen Substanzen dienen sollten. Vergleicht man die von verschiedenen

Untersuchern angegebenen größten und kleinsten Brechungsexponenten untereinander, so findet man oft weitgehende Unterschiede, die die praktische Verwendung zum Identitätsnachweis unsicher erscheinen lassen. Die Unterschiede in den Angaben der Literatur sind zum Teil auch dadurch verursacht, daß nicht immer wasserfreie und wasserhaltige Kristalle desselben Stoffes auseinandergehalten werden (Coffein, Morphin, Kodein). Desgleichen wurden die verschiedenen Modifikationen nicht beachtet (Veronal und Morphin). Es sollte daher das Suchen nach dem größten und kleinsten Brechungsexponenten als Arbeitsmethode in der Mikrochemie aufgegeben werden.

Mit diesen Hinweisen wollen wir in keiner Weise den großen Wert kristalloptischer Untersuchungen für die Identifizierung organischer Substanzen herabsetzen. Es soll nur eindringlich betont werden, daß an solche Untersuchungen nur mit ausreichenden kristalloptischen Kenntnissen herangetreten werden darf. Das häufige Fehlen dieser Voraussetzung ist die Ursache der zahlreichen oben angedeuteten Fehler in der Literatur.

#### Schlußbemerkung.

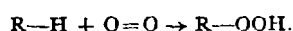
Die Kennzeichnung organischer Substanzen durch mikroskopisch-kristalloptische Methoden muß daher dem Spezialisten vorbehalten bleiben. Die Identifizierung durch Bestimmung des Schmelzpunktes und des Brechungsexponenten der Schmelzen unter dem Mikroskop dagegen kann von jedem Chemiker sehr leicht erlernt und in einfacher Weise erfolgreich durchgeführt werden. Die höchste Leistungsfähigkeit in der Identifizierung organischer Substanzen wird nach unseren Erfahrungen durch die Vereinigung von kristalloptischen Bestimmungen mit den Mikroschmelzpunktmethoden erreicht. [A. 85.]

## Zur Frage der Oxydation von Aldehyden mit Luftsauerstoff

Von Dr. A. RIECHE, Wolken, Dozent an der Universität Leipzig

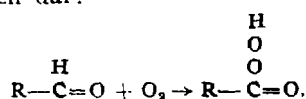
Eingep. 20. August 1938

In verschiedenen Abhandlungen wurde die Anschauung von mir vertreten, daß bei der Oxydation organischer Stoffe im allgemeinen als erste Zwischenstufen der Oxydation durch Einschieben des Sauerstoffes in eine CH-Bindung Alkyl-Hydroperoxyde entstehen<sup>1)</sup>. Eine CH-Bindung verhält sich gegen Sauerstoff besonders aktiv, wenn das Kohlenstoffatom durch ungesättigte oder aromatische Reste, durch einfach oder mehrfach gebundenen Sauerstoff, wie bei Alkoholen, Äthern und Aldehyden, oder eine C=O-Gruppe, wie bei Ketonen, besetzt ist. Es findet also gleichsam nach Auflockerung der CH-Bindung eine Addition von R—H an das ungesättigte O<sub>2</sub>-Molekül statt:



Die Erforschung des Ablaufs der Oxydation von Äthern, Aldehyden, Ketonen, Olefinen und hydroaromatischen Verbindungen mit Luftsauerstoff hat ergeben, daß die Anschauung der „Addition der organischen Reste an das Sauerstoffmolekül“ für die meisten Fälle zutreffend ist.

Diese Fragen wurden in den erwähnten Abhandlungen bereits eingehend erörtert. Die Oxydation der Aldehyde stellt sich gemäß diesen Anschauungen dann folgendermaßen dar:



<sup>1)</sup> Diese Ztschr. 44, 896 [1931]; 49, 101 [1936]; 50, 520 [1937]. Die Bedeutung der organischen Peroxyde für die chemische Wissenschaft und Technik, Enke, Stuttgart 1936, S. 32 ff.

Als erstes definierbares Zwischenprodukt der Aldehydoxydation würde dann Persäure entstehen, die bekanntlich als solche isoliert werden kann. Persäure und Aldehyd gibt dann ein Additionsprodukt, das 2 Moleküle Säure liefert. Dieser Reaktionsablauf ist bereits Gegenstand von Veröffentlichungen verschiedener Autoren gewesen.

Von Fachgenossen wurde ich dankenswerterweise auf eine Lücke aufmerksam gemacht, die bei den bisherigen Erörterungen noch bestand: Es wurde die Tatsache nicht berücksichtigt, daß die Oxydation der Aldehyde unter gewissen Bedingungen auch zu Säureanhydriden führen kann.

Nach einem Patent der Aktiengesellschaft für Stickstoffdünger<sup>2)</sup> entstehen nämlich aus Aldehyden und Sauerstoff unter Reaktionsbedingungen, bei denen für einen raschen Entzug des entstehenden Reaktionswassers gesorgt wird, nicht nur Säuren, sondern auch zu erheblichen Anteilen die Anhydride der entsprechenden Säuren. Im allgemeinen werden nach den Angaben der Patentschrift 10–30% d. Th. des eingesetzten Aldehyds als Anhydrid erhalten, nur im Falle des Önanthols werden über 60% erhalten. Auf Grund dieser Ergebnisse liegt der Gedanke nahe, daß die Bildung von Säuren aus Aldehyden stets über Anhydride als Vorstufen führt.

Zunächst erhebt sich nun die Frage: Bildet sich Anhydrid als normales erstes Hauptreaktionsprodukt und die Persäure erst aus dem Anhydrid? Entsteht also Persäure vielleicht als „anomales“ Nebenprodukt? Mit einiger

<sup>2)</sup> Franz. Pat. 781 326; Chem. Ztrbl. 1935, II, 2446.