

DETERMINAZIONE MICRO-ANALITICA
DEL CARBONIO E DELL'IDROGENO (*)

W. SCHÖNIGER

DIPARTIMENTO MICROANALITICO, SANDOZ S.P.A., BASILEA (SVIZZERA)



Il metodo più importante nel laboratorio di analisi organica è ancora sempre quello della determinazione del contenuto in C e H. Con questo metodo si ottengono, con una sola analisi, due risultati che sono di massima importanza per ogni composto organico. Pregl, il fondatore della microanalisi organica, ha perciò cominciato fin dall'inizio a sviluppare un metodo utilizzabile che si dimostrò valido poi durante molti anni e che viene usato ancor oggi, sotto forma invariata, in molti laboratori di microanalisi (1).

Malgrado questo procedimento sia universalmente usato da parecchi decenni, negli ultimi vent'anni vennero descritte importanti modifiche e nuovi metodi che forse potrebbero venir discussi con vantaggio partendo dai tre seguenti punti di vista:

- 1) cambiamenti delle condizioni di combustione,
- 2) cambiamenti nel modo di eliminare gli ossidi di azoto,
- 3) nuovi metodi per la determinazione dei prodotti di combustione CO_2 e H_2O .

1) *Cambiamenti delle condizioni di combustione.*

Il riempimento universale secondo Pregl ($\text{CuO}/\text{PbCrO}_4$, Ag e PbO_2) fece buona prova. Tuttavia, è necessario attenersi esattamente alle regole di esecuzione da lui dettate se si vuol bruciare con suc-

(*) Conferenza tenuta al Seminario di Chimica Terapeutica presso l'Istituto di Chimica Farmaceutica dell'Università di Pavia (5 - 18 aprile 1960).

cesso anche le cosiddette sostanze « difficilmente combustibili ». Col tempo, vennero però sviluppati catalizzatori di combustione veri e propri, quali per esempio i cosiddetti « Vinosit » di *Reihlen* (2), che a temperature relativamente basse (600-700°) accelerano particolarmente la ossidazione del CO e del CH₄.

Un progresso rilevante fu realizzato quando, per il riscaldamento dei tubi di combustione divenne possibile ottenere, in maniera semplice, temperature superiori agli 800°. *Belcher* e *Ingram* (3) introdussero così la combustione « a tubo vuoto ». Come lo dice il nome, non è più necessario nessun riempimento ossidante. Le sostanze vengono bruciate in una corrente di ossigeno molto veloce. Anche *Korshun* (4) si occupò di combustioni « a tubo vuoto ». *Kirsten* (5) descrisse una modificazione, nella quale il tubo di combustione è rivestito internamente da un manicotto di NiO. L'ossidazione della sostanza ha luogo a 1000° e con forte velocità della corrente gassosa. Con l'introduzione di tali processi divenne possibile la standardizzazione delle determinazioni CH, poichè sostanze di natura diversa non necessitano più di metodi particolari di combustione. E' interessante constatare che in questi ultimi anni si ritorna di nuovo, con preferenza, verso temperature di combustione basse. Due proposte di questo tipo meritano di esser qui rimarcate. Esse si convalidarono nell'uso quotidiano nel nostro laboratorio. Si tratta del riempimento dei tubi di combustione col prodotto di decomposizione termica del AgMnO₄ secondo *Körbl* (6) e dell'impiego di Co₃O₄ secondo *Vecera* (7).

Dopo aver minutamente esaminato 28 diversi catalizzatori di combustione, *Horacek* e *Körbl* (7a) arrivarono alla conclusione che il catalizzatore più attivo è il prodotto di decomposizione del permanganato d'argento. In linea generale, si può dire che sono catalizzatori di combustione particolarmente attivi queglii ossidi superiori metallici che contengono argento finemente suddiviso. La presenza di argento in tali catalizzatori è molto utile per l'analisi elementare anche perchè permette un'eliminazione completa degli alogeni e degli ossidi di solfo dai prodotti di combustione. L'assorbimento di queste sostanze di disturbo non influisce sull'efficienza del catalizzatore.

Il prodotto della decomposizione termica del AgMnO₄, che noi utilizziamo esclusivamente da alcuni anni per il riempimento dei nostri tubi di combustione, consiste in atomi dispersi di argento su MnO₂. E' raccomandabile effettuare la decomposizione nella stufa di essiccaamento a temperature inferiori ai 100° oppure preparare la miscela di Ag + MnO₂ precipitando contemporaneamente a caldo l'Ag₂O e il MnO₂. Questa miscela ha il vantaggio di poter esser granulata col metodo usuale. Poichè il riempimento del tubo di combustione con que-

sto catalizzatore non necessita una lunghezza maggiore di 30-40 mm e poichè si può lavorare con un'alta velocità di flusso, è possibile raccorcicare sensibilmente il tempo di analisi. Una determinazione completa può esser condotta a termine nel giro di 22-25 minuti. Nel nostro dipartimento, per esempio, siamo in grado di eseguire, con 3 apparecchi che lavorano in serie, 50 determinazioni-CH al giorno.

Infine, dovrebbero venir citati, a questo punto, anche quei riempimenti che permettono oltre alla determinazione del contenuto in C ed H anche l'analisi quantitativa di altri elementi. Vengono poi descritti da diversi autori procedimenti tali, per cui oltre al C ed all'H possono venir determinati anche il Si, il P, lo S e il F (8) (9) (10) (11).

2) *Cambiamenti nel modo di eliminare gli ossidi di azoto.*

Una sorgente di disturbo nella determinazione classica del CH secondo P r e g l è l'impiego del PbO_2 per l'assorbimento degli ossidi d'azoto. Questi, come si sa, assorbe a 180° i molesti ossidi di azoto, ritiene però anche un po' di H_2O e di CO_2 .

Cambiamenti di temperatura del forno a PbO_2 agiscono disturbando i risultati C e H, come lo hanno dimostrato, per esempio, L i n d n e r (12) e B o e t i u s (13) in estese ricerche. Molto presto, vennero quindi cercate altre possibilità per eliminare gli ossidi di azoto. In linea di principio, si possono distinguere due vie per raggiungere questo scopo vale a dire l'assorbimento (o rispettivamente il legame chimico) degli ossidi di azoto oppure la riduzione di questi a N_2 o N_2O . Quali agenti di assorbimento vengono proposti: acido solforico concentrato (14), acido solforico concentrato con bicromato di potassio (15), oppure difenilammina (16) e MnO_2 sotto diverse forme (17) (18) (19). L i n d n e r (12) raccomandò per primo l'impiego del rame — un mezzo di riduzione quindi — che in questi ultimi tempi venne ripreso da K a i n z (20) e da U n t e r z a u c h e r (21).

Altrettanto adatto è il nichel (22). Con l'impiego di questi due mezzi di riduzione, per la combustione non può essere usato o può essere usato solo in quantità limitata l'ossigeno, mentre invece con lo impiego di solfammato di ammonio, raccomandato da H u s s e y e C o l l. (23) o di fosfato di ammonio terziario, come proposto da C r o s s e W r i g h t (24), la combustione può aver luogo in corrente di ossigeno. Entrambi i reagenti riducono il molesto NO_2 a N_2 e N_2O .

3) *Nuovi metodi per la determinazione dei prodotti di combustione:*

Per molto tempo, l' H_2O e il CO_2 risultanti dalla combustione vennero determinati esclusivamente per via gravimetrica. Ancor oggi con-

tinuano ad esser presentate numerose variazioni dei tubicini di assorbimento (25) (26) (27). I tubicini di Pregl si sono però affermati finora come i migliori. Anche raccordi a tubo flessibile, sia di gomma che di silicone, sono tuttora di largo impiego benchè alcuni autori (Fischer (28), Kirsten (29), Bürger (30), Kuck (31)) raccomandino giunti a smeriglio.

Lindner (12) provò per primo a determinare i prodotti di combustione per via volumetrica, però questo metodo non riuscì a farsi strada. Johansson (32) raccomanda in questi ultimi tempi la titolazione secondo Karl Fischer per l' H_2O e una determinazione finale iodometrica secondo Unterzaucher (33). Essa si basa sul principio di un'apparecchiatura-CH unita ad un'apparecchiatura-O che determina il contenuto in ossigeno della H_2O e della CO_2 prodotti dalla combustione (Fig. n. 1).

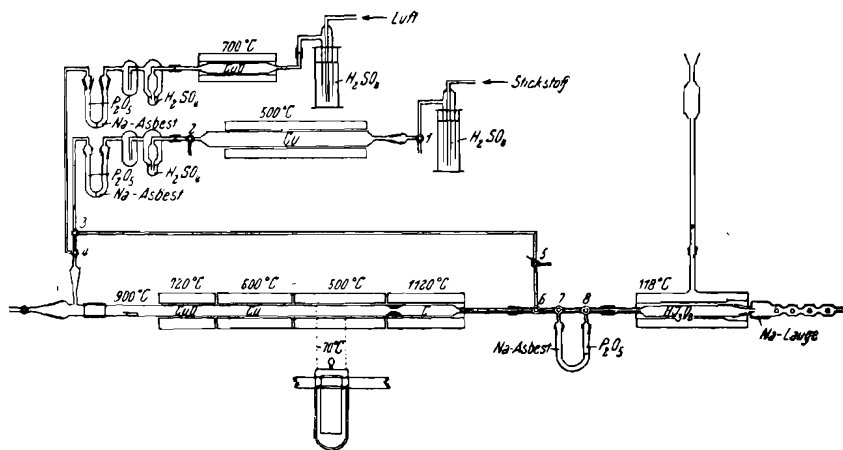


Fig. n. 1

Apparecchiatura per la micro- e ultramicro-determinazione iodometrica del C.H.

La sostanza viene bruciata in corrente d'aria. L'ossigeno in eccesso viene allontanato a mezzo di rame. L'acqua vien congelata a fondo tra il forno di combustione e il forno a carbone di contatto, per raffreddamento del tubo di combustione. La CO_2 viene condotta sul carbone portato a 1120° e, in seguito, dopo conversione in CO , determinata iodometricamente. Terminata la determinazione del C, viene allontanato il dispositivo di raffreddamento e, riscaldandola, l'acqua viene pure condotta sul carbone di contatto in maniera da svilupparsi nuovamente

CO. In questo processo molto elegante ma purtroppo un po' complicato i fattori di calcolo sono estremamente favorevoli:

a 1 ml di $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ corrispondono 50,04 μg C, risp. 18,60 μg H

Questo metodo s'adatta perciò anche per procedimenti ultra-micro, nei quali si deve poter lavorare anche con quantitativi inferiori al mg.

Sembrano acquistare importanza anche quei metodi che si occupano della determinazione gas-analitica dei prodotti di combustione (34 - 38).

Fondamentalmente, si tratta, in questi casi, di un congelamento frazionato dei prodotti di combustione. Alla fine di quest'ultima vengono misurate le pressioni parziali e risp. i volumi dei gas. Questi procedimenti sono importanti specialmente per la determinazione dei composti ^{14}C , poichè se ne può calcolare l'attività in un tubo contatore per gas, subito dopo avere terminato l'analisi. Un sistema a combustione inizialmente umida e poi secca (38 - 40) permette solo la determinazione del C. Si tratta però di un metodo eccezionalmente importante per ricerche biochimiche come nel caso, per esempio, che si voglia seguire nell'organismo animale il metabolismo di un composto con un C marcato. Il principio sta nell'unire la sostanza pesata a una miscela ossidante e incenerirla umida dopo l'aggiunta di acido solforico - acido fosforico. Finalmente, i prodotti dell'ossidazione vengono portati in un tubo di quarzo riempito con ossido di rame, lana di quarzo platinata e argento e il tutto riscaldato a 700° . Con questo sistema, anche i

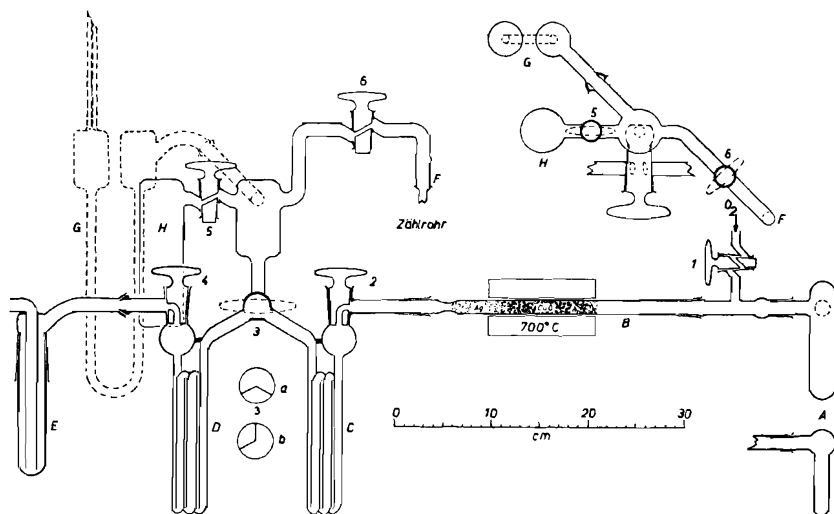


Fig. n. 2

prodotti volatili di decomposizione (per es. CO, acido acetico, metano) vengono trasformati completamente in CO₂ (41). La determinazione della CO₂ avviene in un manometro a due liquidi. Con due apparecchiature di questo tipo vennero eseguite, nel nostro dipartimento biochimico, nel corso di tre anni e mezzo, circa 10.000 analisi (Fig. n. 2).

Questo metodo gasometrico è interessante per la ragione che può essere ulteriormente sviluppato per un'analisi simultanea CHN. Nel nostro dipartimento di microanalisi vennero intraprese, anni or sono, ricerche in questo senso. Esse portarono a risultati soddisfacenti dando così la dimostrazione che è possibile in questa maniera e con la consueta esattezza, determinare il percento di C, H ed N mediante un'unica pesata. Il principio consiste nel bruciare la sostanza nel tubo di combustione in modo tale da produrre CO₂, H₂O e N₂. Ciò si ottiene mescolando, quale donatore di ossigeno, CuO alla sostanza pesata e conducendo poi i gas di combustione così ottenuti attraverso un tubo con riempimento a base di Ni, NiO ed Ag. Si congela frazionatamente (un dislivello termico sufficiente si ottiene raffreddando con anidride carbonica + acetone e rispettivamente con aria liquida) e si determina dapprima la pressione parziale dell'azoto. Dopo averlo pompato via, si passa nella medesima maniera alla CO₂ e per finire, dopo un'ulteriore pompamento, viene determinata l'acqua. Tutta l'apparecchiatura deve essere evacuata prima dell'analisi a 10⁻² mm Hg. Col medesimo procedimento è possibile determinare i rapporti C-H-N anche con quantitativi a peso non conosciuto (42). Per intanto abbiamo sospeso le ricerche con questa apparecchiatura dato che il manometro impiegato per le misure di pressione — un manometro a due liquidi da noi costruito — è di maneggio un po' difficile. Abbiamo però una legittima speranza di entrare presto in possesso di uno strumento, misuratore di pressione, elettrico.

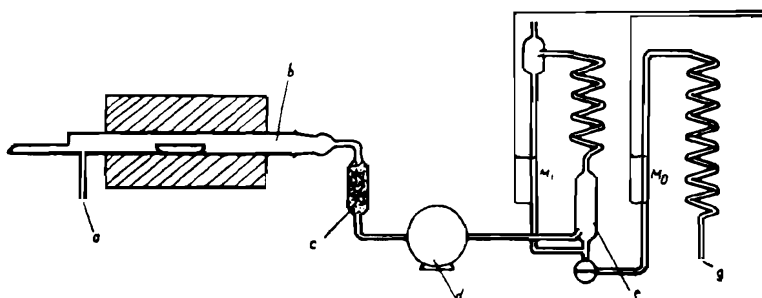
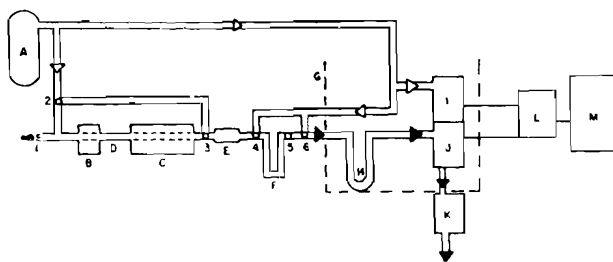


Fig. n. 3

Schema della apparecchiatura per la determinazione del carbonio.

Un altro procedimento, che finora è adatto solo per la determinazione del C, venne descritto poco tempo fa da Malissa (Fig. n. 3) (43). Partendo da una metodica già da tempo conosciuta e largamente applicata nell'industria dell'acciaio, Malissa mostrò che, secondo questo stesso principio, può venire determinato anche il contenuto in C dei composti organici. Terminata la combustione, la CO_2 vien pompata in un recipiente graduato, riempito con NaOH, a velocità di afflusso costantemente determinata. L'assorbimento della CO_2 diminuisce la conducibilità elettrica della soluzione alcalina. Queste variazioni di conducibilità sono proporzionali alle quantità di CO_2 . Un altro apparecchio di misura per il controllo è costantemente riempito con soluzione alcalina fresca. Un dispositivo registratore scrive direttamente i quantitativi di CO_2 in modo da poter leggere direttamente il contenuto in C dalla posizione della punta scrivente alla fine dell'analisi. Un'apparecchiatura di questo tipo è attualmente in prova da noi.



- > corrente di elio puro
- ▶ elio puro con campione

Fig. n. 4

Reppresentazione schematica dell'apparecchio di combustione gas-cromatografica.

- A - elio
 - B - forno mobile
 - C - forno fisso
 - D - canna di combustione del tipo Unterzaucher
 - E - tubo a carburo di calcio
 - F - azoto liquido
 - G - bagno ad olio termostatato
 - H - colonna a gel di silice
 - I - cella di riferimento
 - J - cella sensibile
 - K - rotametro
 - L - circuito a ponte
 - M - registratore scala 5 mv.
- } Gow-Mac, termistori a 24.000 ohm.
- 1, 2, 3, 4, 5, 6, (rubinetti a a tre vie)

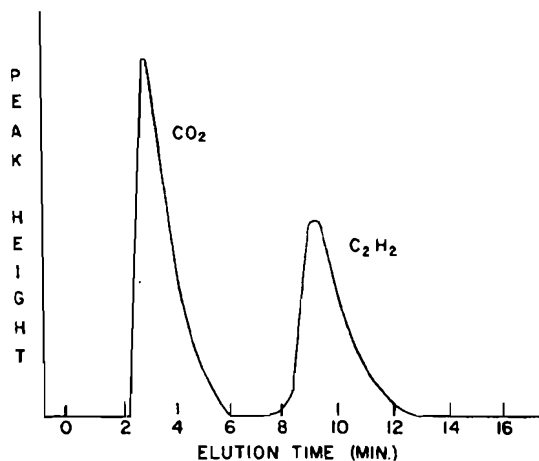


Fig. n. 5

Cromatogramma tipico per la determinazione del carbonio - idrogeno.

La determinazione è estremamente veloce in modo che la durata dell'analisi è data solo dalla velocità della combustione.

Con l'introduzione della cromatografia gassosa, procedimento analitico estremamente prezioso, ci si doveva aspettare che sarebbero state intraprese presto ricerche per condurre a termine determinazioni —CH con questo metodo di separazione. Effettivamente in questi ultimi tempi sono apparsi due lavori che trattano questo tema (44) (45). Con entrambi questi procedimenti l'acqua prodotta viene trasformata in acetilene a mezzo carburo di calcio, mentre la CO_2 viene condotta direttamente alla separazione cromatografica. La colonna di separazione è riempita con gel di silice (Fig. n. 4, 5). Ci si deve aspettare che questo metodo venga rapidamente perfezionato in maniera che tra poco anche le determinazioni CH non verranno più eseguite per via gravimetrica.

BIBLIOGRAFIA

- 1) PREGL F., ROTH H., *Quantitative organische Mikroanalyse*, (7th Ed.), Springer, Wien; 1958.
- 2) REIHLEN H., *Mikrochemie*, **23**, 285; 1937-1938.
- 3) BELCHER R., SPOONER C. E., *J. Chem. Soc.*, 313; **1943**.
BELCHER R., INGRAM G., *Anal. Chim. Acta*, **4**, 118; 1950.
INGRAM G., *Chem. e Ind. (London)*, 103; **1956**.
- 4) KORSHUN M. O., *Z. anal. Chem.*, **7**, 96; 1952; *Brit. Abstr. No. 3801*; **1952**.
- 5) KIRSTEN W., *Mikrochemie ver. Mikrochim. Acta*, **35**, 217; 1950.
- 6) KÖRBL J., *Mikrochim. Acta*, 1705; **1956**.

- 7) VECERA M., SNOBL D., SYNEK L., *Mikrochim. Acta*, **9**; 1958.
- 7a) HORACEK J., KÖRBL J., *Chem. e Ind. (London)*, 101; 1958.
- 8) KORSHUN M. O., TERENTJEVA E. A., KLIMOVA V. A., *Z. anal. Chem.*, **9**, 275; 1954; *Chem. Zentr.*, 6353; 1955.
- 9) KLIMOVA V. A., KORSHUN M. O., BERESNITZKAJA J. G., *Doklady Akad. Nauk S.S.S.R.*, **96**, 81, 287; 1954; *Chem. Zentr.*, 2265; 1955.
- 10) KAUTSKY H., FRITZ G., SIEBEL H. P., SIEBEL D., *Z. anal. Chem.*, **147**, 327; 1955.
- 11) MÁZOR L., *Mikrochim. Acta*, 113; 1957.
- 12) LINDNER J., *Mikroanalytische Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs mit grundlegender Behandlung der Fehlerquellen in der Elementaranalyse*. Verlag Chemie, Berlin; 1935.
- 13) BOETIUS M., *Ueber die Fehlerquellen bei der mikroanalytischen Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs*, Verlag Chemie, Berlin; 1931.
- 14) BÜRGER K., *Die Chemie*, **55**, 260; 1942.
- 15) ELVING P. J., McELROY W. R., *Ind. e Eng. Chem., Anal. Ed.*, **13**, 660; 1941.
- 16) IRIMESCU J., POPESCU B., *Z. anal. Chem.*, **128**, 185; 1948.
- 17) BELCHER R., INGRAM G., *Anal. Chim. Acta*, **4**, 401; 1950.
- 18) KÖRBL J., *Mikrochim. Acta*, 1705, 1956.
- 19) KÖRBL J., BLABOLIL K., *Chem. listy*, **49**, 1664; 1955.
- 20) KAINZ G., *Mikrochemie ver. Mikrochim. Acta*, **35**, 569; 1950.
- 21) UNTERZAUCHER J., *Chem. Ing. Tech.*, **22**, 128; 1950; *Mikrochemie ver. Mikrochim. Acta*, **36-37**, 706; 1951.
- 22) KAINZ G., SCHÖLLER F., *Z. anal. Chem.*, **148**, 6; 1955.
- 23) HUSSEY A. S., SORENSEN J. H., DE FORD D. D., *Anal. Chem.*, **27**, 280; 1955.
- 24) CROSS C. K., WRIGHT G. F., *Anal. Chem.*, **26**, 886; 1954.
- 25) MITSUI T., *Bull. Research Inst. Food Sci., Kyoto Univ.*, **39**, 11; 1953; *Chem. Abstr.*, **47**, 12120 b; 1953.
- 26) KIRSTEN W., *Mikrochim. Acta*, 41; 1953.
- 27) KÖRBL J., *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **20**, 993; 1955.
- 28) FISCHER F. O., *Anal. Chem.*, **21**, 827; 1949.
- 29) KIRSTEN W., *Mikrochemie ver. Mikrochim. Acta*, **35**, 217; 1950.
- 30) BÜRGER K., *Mikroelementaranalyse*, W. C. Heraeus G.m.b.B., Hanau; 1952.
- 31) KUCK J., ALTIERI P., ARNOLD N., *Mikrochim. Acta*, 1544; 1956.
- 32) JOHANSSON A., *Anal. Chem.*, **26**, 1183; 1954.
- 33) UNTERZAUCHER J., *Mikrochim. Acta*, 448; 1957.
- 34) BERRAZ G., *Anales inst. invest. cient. y tecnol., Santa Fé, Arg.*, **7**, 70; 1937.
- 35) NAUGHTON J. H., FRODYMA M. M., *Anal. Chem.*, **22**, 711; 1950.
- 36) ANDERSON R. C., DELA BARRE Y., BOTHNER-BY A. A., *Anal. Chem.*, **24**, 1298; 1952.
- 37) KIRSTEN W., *Anal. Chem.*, **26**, 1097; 1954.
- 38) SCHÖNIGER W., *Mikrochim. Acta*, 545; 1957.
- 39) RUTSCHMANN J., SCHÖNIGER W., *Helv. Chim. Acta*, **40**, 428; 1957.
- 40) RUTSCHMANN J., *Helv. Chim. Acta*, **40**, 433; 1957.
- 41) LIEB H., KRAINICK H. G., *Mikrochemie*, **9**, 367; 1931.
- 42) SCHÖNIGER W., *Mikrochim. Acta*, 545; 1957.
- 43) MALISSA H., *Mikrochim. Acta*, 553; 1957.
- 44) DUSWALT A. A., BRANDT W. W., *Anal. Chem.*, **32**, 272; 1960.
- 45) SUNDBERG O. E., MARESH C., *Anal. Chem.*, **32**, 274; 1960.