

O dokazivanju benzidina (I): o reakcijama benzidina s dušikovim oksidima, cijanovodikom i nekim drugim reagensima

Vukčević-Kovačević, V.; Bićan-Fišter, T.

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1951, 7, 415 - 425**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:576177>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



NAUČNO-PRAKTIČNI DIO

V. Vukčević-Kovačević i T. Bićan-Fišter:

O dokazivanju benzidina (I)

O REAKCIJAMA BENZIDINA S DUSIKOVIM OKSIDIMA, CIJANOVODIKOM I NEKIM DRUGIM REAGENSIMA

(Iz Zavoda za farmaceutsku kemiju Farmaceutskog fakulteta u Zagrebu.)

(Primljeno 10. XI. 1951.)

Za dokazivanje benzidina* služe različne reakcije, koje se uglavnom osnivaju na oksidaciji: tog spoja na t. zv. benzidinsko modrilo** (1). Na istom principu osniva se ponajčešće i primjena benzidina kao reagensa.

Do oksidacije benzidina na benzidinsko modrilo dolazi djelovanjem brojnih oksidansa, pri različnim autoksidacijskim procesima, djelovanjem tvari, koje nisu izraziti oksidansi, ali im se može povisiti oksidacijski potencijal i sl.

Ove su reakcije često vrlo osjetljive, tako da se spomoću benzidina mogu dokazati brojni spojevi već u tragovima.

Ako se na pr. neznatna količina olovnog ili manganovog dioksida na papiru za filtriranje ovlaži otopinom benzidina u octenoj kiselini, nastaje još vidljiva modra boja. Na temelju te reakcije može se olovo dokazati u razrjeđenju 1 : 1.000.000 (2).

Pri autoksidaciji manganovog hidroksida na zraku dolazi do stvaranja $MnO_2 \cdot H_2O$, koji s benzidinom daje modru boju još u razrjeđenju 1 : 330.000 (3).

Budući da manganov dioksid nastaje djelovanjem soli srebra na $Mn(II)$ -soli u alkalnom mediju, može reakcija MnO_2 s benzidinom poslužiti i za dokazivanje hidroksilnih iona što se iskorištava na pr. za dokazivanje neznatnih količina amoni-

* 4,4'-diaminodifenil — $(C_6H_4NH_2)_2$

**
$$\left[\begin{array}{c} H_2N-C_6H_4-C_6H_4-NH_2 \\ HN=C_6H_4=C_6H_4=NH \end{array} \right] 2HX$$

jaka. Izvođenjem reakcije na papiru za filtriranje postizava se granična koncentracija 1:10.000.000 (4). Ovu reakciju predlaže Feigl i za ispitivanje alkaliteta stakla (5), kao i za indirektno dokazivanje bora (6). Pri reakciji naime borne kiseline s alkalijskim fluoridima također se oslobađaju hidroksilni ioni. Granična koncentracija 1:5.000.000.

Pri prevođenju Mn(II)-soli u MnO_2 djelovanjem bromata u nazočnosti sumporne kiseline (7) može se dokazivanje mangana izvesti na papiru za filtriranje s benzinom kao reagensom (8).

Prema Feiglu i Neuberu reagiraju s benzinom Cu(II)-soli, kad se dodatkom alkalijskih bromida prevode u Cu(I)-soli (9). U ovom se slučaju kemizam oksidacije temelji na povišenju oksidacijskog potencijala sistema Cu(II)/Cu(I) zbog teške topljivosti nastale Cu(I)-soli i zbog nazočnosti halogenida. Tumačenje, koje daje Tettemanzi, da je reakcija uvijekovana halogenom (10), Kuhlberg (11) ne prihvaća. Isti autor nalazi da je za pozitivan ishod reakcije od važnosti, da intermedijarno nastane (Cu benzin) $\cdots$ ion. Stoga treba najprije dodati benzina, a tek onda bromida. Granična koncentracija 1:75.000.

Tananajev izvodi reakciju s razr. otopinom kalijeva cijanida umjesto bromida odn. jodida (12). U takvoj izvedbi može reakcija poslužiti za dokazivanje cijanida kako predlaže Moir (13). Feigl (14) je izvodi tako, da kap otopine koju ispituje stavi u mikro-porculanski lončić, doda kap razr. sumporne kiseline, pa na otvor lončića stavi komad papira za filtriranje ovlažena otopinom smjese kupri-acetata i benzinova acetata, i papir prekrije stakalcem od sata. Pritom se oko bezbojne mrlje javlja modar rub. Granična koncentracija 1:200.000. Za dokazivanje β -glikozidaze emulzina tim načinom predlaže autor da se reakcija izvodi uz dodatak glikozida amigdalina (15), jer se on razgrađuje na HCN.

Reakcija na cijanide predlaže se i za dokazivanje rodanida (16), koji se u tu svrhu oksidiraju na cijanide (17) (granična koncentracija 1:50.000), kao i za dokazivanje organski vezanog dušika nakon prevođenja u cijanid postupkom od Lassaigne-a (18).

Dokazivanje sumporaste kiseline i nikla spomoću benzina osniva se na tome, što autoksidacija SO_2 inducira oksidaciju Ni(II)-hidroksida na Ni(III)-hidroksid, pa dolazi do oksidacije benzina spomoću nastalog višeg metalnog oksida odn. hidroksida (19). Na taj način mogu se dokazati i sulfonske kiseline kao i sulfoni, jer se pri taljenju ovih spojeva s natrijevim hidroksidom razvija SO_2 (20).

Benzin se oksidira na benzinsko modrilo i djelovanjem nekih heteropolikiselina molibdena, koje sadržavaju fosfor, arsen, silicij ili germanij kao centralni atom. Kod molibdenske kiseline ne dolazi u nazočnosti benzina do redukcije na molibdensko modrilo odn. do oksidacije benzina na benzinsko modrilo. Naprotiv, reakcija je pozitivna na pr. već uz neznatnu količinu fosforne ili kremične kiseline. Stoga se ova reakcija predlaže za dokazivanje germanija (21), fosfora (22), silicija (23). Nadalje se predlaže za dokazivanje fluorida (23), jer ovi daju silikofluorovodičnu kiselinu, koja, kao i kremična, reagira s amonijevim molibdenatom uz stvaranje silikomolibdenske kiseline.

Benzin je uz dodatak vodikova peroksida uobičajen reagens na krv odn. hemoglobin u krvi. Hemoglobin naime ima svojstvo peroksidaze, pa katalizira oksidaciju benzina spomoću vodikova peroksida na benzinsko modrilo (24).

Nadalje služi benzin uz dodatak vodikova peroksida i octene kiseline (u svrhu zgrušavanja mlijeka), za razlikovanje svježeg mlijeka od mlijeka zagrijanog na 78° i na višu temperaturu, a sam benzin za dokazivanje vodikova peroksida spomoću nekuhanog mlijeka (25).

Denigès (26) predlaže kao reagens na oksidanse otopinu od 1 g benzidina u 10 ccm konc. octene kiseline i 30—35 ccm vode (cca 0,5% otop. benzidina u cca 20% octenoj kiselini). Za brojne reakcije s benzidinom Feigl (27) također uzima otopinu benzidina u octenoj kiselini.

Za ispitivanje na peroksidaze (oksidaze) propisuje na pr. švajcarska farmakopeja (28) 10% ut/vol. otop. benzidina u 96% etanolu i vodikov peroksid. Ispitivanja na krv vrše se također s otop. benzidina u etanolu uz dodatak vodikova peroksida i octene kiseline.

Za dokazivanje benzidina obično se propisuje reakcija s kalijevim dikromatom (29), odnosno s kalijevim fericijanidom (30) kao oksidansima, pa reakcija s razr. sumpornom kiselinom, pri kojoj nastaje bijel talog gotovo netopljivog benzidinovog sulfata (31). Ova reakcija služi ujedno za dokazivanje i određivanje sulfata (31).

Od farmakopeja propisuju benzidin kao reagens: D. A. B. VI. 1926, Ph. Jug. 1933, ph. Helv. V. 1933, ph. Suec. XI. 1946, B. P. VII. 1948, U. S. P. XIV. 1950.

Jugoslavenska, njemačka i danska farmakopeja propisuje benzidin za ispitivanje na tragove fosgena i klora u preparatu Chloroformium ad narcosin; nadalje ga švajcarska, švedska, engleska, danska farmakopeja propisuje za ispitivanje na peroksidaze i oksidaze u drogama, koje ih sadržavaju, kao i u preparatima pripremljenim iz tih droga.

Od identitetnih reakcija propisuje danska i švedska farmakopeja reakciju s vodikovim peroksidom uz dodatak male količine krvi, a švedska još i reakciju s kalijevim dikromatom kao i reakciju sa sumpornom kiselinom.

Ostale farmakopeje ne propisuju kemijskih reakcija, već samo određivanje tališta i ispitivanje čistoće.

Pri našim ispitivanjima izvodili smo reakcije s otopinom benzidina (otop. b.) u 2% klorovodičnoj kiselini, pa u 96% i 30% octenoj kiselini i u 96% etanolu usporodo.

Ispitivanja smo vršili najprije s otopinama reagensa na osnovu reakcija opisanih u literaturi. Pri daljnjim ispitivanjima stavili smo težište na one reakcije, koje bi se na jednostavan način mogle izvesti s kapi otop. b. na papiru za filtriranje upotreбивši reagense u obliku para.

Reakcije s otopinama reagensa

Ova smo ispitivanja izvodili sa 0,5—1 ccm 0,5—1% otop. b. i uglavnom 1 kapi otopine reagensa.

Kao reagens upotreabili smo KMnO_4 (32), $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (29) FeCl_3 (33), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (30), AgNO_3 (34), jod (34, 35).

Dobiveni podaci navedeni su u tablici I, u koju su uvršteni i podaci, koji se odnose na ispitivanja spomoću reagensa u obliku para, jer smo dotične reakcije prethodno vršili s otopinama reagensa u epruveti. To su ispitivanja s NaNO_2 (35), CuSO_4 i KCN (12), CuSO_4 i KI .

Dopuna tablice I:

ad KMnO_4 : Saget (32) je ispitivao vodenu otop. benzidinova hidroklorida spomoću vodene otop. kalijeva permanganata. Pritom je dobivao modar talog. Navodi da je u nazočnosti klorovodične kiseline reakcija negativna. Uz sumpornu kiselinu taloži se benzidin kao sulfat; kad se ovoj smjesi doda kalijeva permanganata, bijel talog oboji se žuto. Autor dalje navodi, da se modri produkt raspada grijanjem već na cca 65°, kao i dodatkom mineralne kiseline (HCl) ili baze (NH_4OH , Na_2CO_3).

Tablica I.

Reagens*	O t o p i n a b e n z i d i n a			0,5—1% u:
	HCl 2%	CH ₃ COOH 30%	C ₂ H ₅ OH 96%	
KMnO ₄ (0,1 n)	talog — tamno modar u reflektancijom svijetlu smjesa je ljubičasta	boja — tamno modra stajanjem prelazi u tamno crvenu	talog — svijetlo smeđ stajanjem tamni	
K ₂ Cr ₂ O ₇ (1 + 19)	talog — tamno ljubičastomodar	talog — tamno modar	talog — žut dodatkom vode talog se otapa, a otopina je žućkastozielena, za- tim se izlučuje: talog — tamno modar	
FeCl ₃ (1 + 24)	boja — tamno zelena, uskoro talog — tamno modar stajanjem se tekućina oboji crve- noljubičasto	boja — crveni grijanjem prelazi u tamno lju- bičastu (boja prelazi u CHCl ₃)	boja — modra pa žuta už više reagensa: talog — tamno modar	
K ₃ Fe(CN) ₆ (1 + 19)	talog — gotovo crn	talog — tamno ljubičast	talog — tamno modar	
H ₂ O ₂ (3%)	talog — bijel, svlast grijanjem se smjesa oboji crveno (boja djelimice prelazi u CHCl ₃)	talog — bijel, svlast grijanjem smjesa se oboji prljavo crvenoljubičasto (mućanjem s CHCl ₃ sloj CHCl ₃ oboji se narančasto)	otopina ostaje bistra i bezbojna, uz više reagensa: talog — bijel, svlast grijanjem smjesa ostaje bezbojna	
AgNO ₃ (1 + 19)	talog — bijel, sirast, postepeno pozeleni, pa pocrni duljim stajanjem tekućina se oboji ljubičastocrveno	talog — bijel uskoro smjesa se oboji zeleno duljim stajanjem pocrni, a teku- ćina je ljubičastocrvena	talog — bijel polako se smjesa oboji zeleno, talog se zatim oboji smeđesivo, duljim stajanjem tekućina je ljubičasta	

NaNO_2 (1+9)	talog — crvenosmeđ	boja — tamno crvena uz višak NaNO_2 : boja — žuta	otopina ostaje bistra i bezbojna
CuSO_4 (1+49) + KCN (1+9)	talog — tamno modar (dodatkom vode reakcija je izra- zitiya)	talog — tamno modar	sa razr. otop. KCN : talog — tamno modar uz više reagensa: talog — sme- dastocrven
CuSO_4 (1+49) + KI (1+9)	boja — prljavo zelena; + CH_3COONa talog — modar (dodatkom vode reakcija je izra- zitiya)	talog — tamno modar	talog — tamno modar
I (0,1 n) ili $\text{I} + \text{KI}$ (2g+1g+aq do 100 ccm)	boja — prljavo zelena; + CH_3COONa talog — tamno modar (dodatkom vode reakcija je izra- zitiya) uz više reagensa: talog — tamno smeđ	talog — tamno modar (dodatkom vode reakcija je izra- zitiya) uz više reagensa: talog — smeđ	talog — tamno modar (dodatkom vode reakcija je izra- zitiya) uz više reagensa: talog — smeđ

* Koncentracije otopina reagensa odgovaraju onima koje su predložene za novu državnu farmakopeju.

Pri našim ispitivanjima dobivali smo sa zasićenom otop. b. u 2% klorovodičnoj kiselini modar talog. Uz veću koncentraciju H-iona smjesa se oboji smeđežuto do žuto, kako to navodi i Kolthoff (37). Kad se pak kalijeva permanganata doda u višku, boja taloga prijeđe u zeleni i napokon u smeđu. Otop. b. u 30% octenoj kiselini oboji se dodatkom male količine kalijeva permanganata modro, dok se uz više kalijeva permanganata boja mijenja u zelenu i napokon u smeđu. No kad se otop. b. u 30% octenoj kiselini, koja se dodatkom kalijeva permanganata nakon stajanja obojila crveno, pomiješa s malo etanola, boja prelazi u ljubičastu. Doda li se zatim 30% octene kiseline ili vode, postane opet crvena.

a d FeCl_3 : Vieböck (36) izvodi reakciju s vodenom suspenzijom benzidina i otop. željeznog nitrata kao reagensom. Navodi da se pritom suspenzija postepeno oboji žutozeleno do smeđezieleno i izlučuje se svijetlo modar ili ljubičast, amorfan talog.

U otop. b. u etanolu javlja se dodatkom malih količina FeCl_3 modra boja samo prolazno, slično kako opisuju Claus i Riesler (38) pri reakciji benzidina s klorom vodom.

a d H_2O_2 : Kako se iz tablice vidi, reakciju boje nismo dobivali s otop. b. u etanolu niti grijanjem.

a d AgNO_3 : Vieböck (36) izvodi reakciju s benzidinovim acetatom i navodi, da se pritom izlučuje bijel talog, koji postepeno pozeleni i izlučuje se elementarno srebrno. Vaubel (34) izvodi ovu reakciju s otop. b. u etanolu i dobiva bijel talog, koji se postepeno oboji crvenkasto do modrikasto.

Pri našim ispitivanjima pokazalo se, da nakon dodatka otop. srebrnog nitrata tekućina iznad taloga stajanjem poprima ljubičastocrvenu boju od oksidacijskog produkta benzidina.

a d I: Pri izvođenju reakcije benzidina s jodom upotreбили smo kao reagens 0,1 n-I i otopinu jod-kalijev jodid, da bismo ispitali, da li nazočnost kalijeva jodida reakciju koči, kako to Kolthoff navodi (37), što tumači sniženjem oksidacijskog potencijala joda. Vieböck (35) upotrebljava kao reagens također otopinu joda, koja sadržava kalijeva jodida. Prema ovom autoru dobiva se pahuljast talog modre boje, ako se vodenom otopini benzidinove soli doda tek neznatna količina tog reagensa, dok se uz više reagensa izlučuje smeđ talog perjodida.

S objema reagensima dobivali smo u otop. b. u etanolu i u octenoj kiselini vrlo izrazitu reakciju benzidinskog modrila. Otopini benzidina u klorovodičnoj kiselini treba u tu svrhu dodati još i otopine natrijeva acetata. Uz višak joda dolazi do stvaranja smeđecnog taloga perjodida (tablica I) koji stajanjem opet prima modru ili ljubičastomodru boju.

Reakcije s reagensima u obliku para

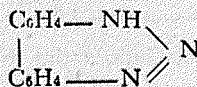
Ova smo ispitivanja izvodili spomoću dušikovih oksida i cijanovodika, a postupali smo tako, da smo kap (cca 0,02 ccm) otop. b. na papiru za filtriranje (Schleicher i Schüll br. 598) izložili djelovanju reagensa na grlu epruvete, u kojoj smo reagens pripremili.

Dušikovi oksidi pripreme se tako, da se natrijev nitrit prelije razr. klorovodičnom kiselinom. Cijanovodik se može pripremiti tako da se 1—2 ccm konc. otop. amonijeva rodanida pomiješa sa 1 ccm razr. sumporne kiseline, pa smjesi doda nekoliko kristalića kalijeva permanganata i zagrije.

Reakcija s dušikovim oksidima

U literaturi je opisana reakcija diazotiranja benzidina spomoću dušičnate kiseline. Djelovanjem tog reagensa na hladnu otop. benzidinova nitrata nastaje difenil-bis-diazonium nitrat (4, 4') (39). Do diazotiranja obiju skupina dolazi, kad se na mol benzidina reagira sa 2 mola natrijeva nitrita u nazočnosti razr. klorovodične kiseline. Na temelju ove reakcije izrađen je postupak za titrimetrijsko određivanje benzidina spomoću natrijeva nitrita (40).

Kad se na mol benzidinova hidroklorida i mol octene kiseline pri 10°–15° djeluje s nešto manje od 1 mola natrijeva nitrita, dolazi do stvaranja taloga boje rde (35). Prema Vaubelu i Scheueru vjerojatna konstitucija nastalog produkta bila bi:



U nazočnosti klorovodične kiseline i stajanjem produkt prelazi u hidroklorid 4-amino-difenil-diazonium klorida (4').

Primot (41) primjenjuje reakciju benzidina s dušičnom kiselinom za ispitivanje tragova dušičnate kiseline u vodi. Kao reagens uzima 1–1,5% otop. b. u 30–40% etanolu. Ako se 10 cm ispitivane vode promućka sa 5 kapi octene kiseline, tekućina se u nazočnosti dušičnate kiseline oboji žućkasto do žuto. Maksimalni intenzitet boje postizava se u roku od 30 min. Granična koncentracija 1:100,000,000 (0,01 mg dušičnate kiseline u 1 litru vode).

Arnold i Mentzel (42) ispituju zrak na nazočnost ozona spomoću papira za filtriranje nakvašena otopinom b. u etanolu. Ovi autori navode i reakcije, koje su tim postupkom dobivali s klorom, bromom, NO₂. Djelovanjem ozona papir se oboji smeđe, djelovanjem broma i NO₂ modro, a djelovanjem klora modro pa crvenosmeđe. S vodikovim peroksidom i cijanovodičnom kiselinom reakcija je negativna.

U svrhu prethodnog ispitivanja izvodili smo reakcije u epruveti i dodavali otopini b. svježe pripremljene otop. natrijeva nitrita (tablica I).

Crvenosmeđ talog dobiven dodatkom natrijeva nitrita otopini b. u 2% klorovodičnoj kiselini, otapa se u 30% octenoj kiselini s crvenom bojom.

Doda li se otopini b. u 96% etanolu nakon natrijeva nitrita malo 30% octene ili 2% klorovodične kiseline, izlučuje se također talog crvenosmeđe boje. Ovaj produkt je vjerojatno analogan onome, koji navode Vaubel i Scheuer.

Pri ispitivanjima s dušikovim oksidima, pokazalo se da promjene koje nastaju s kapi otop. b. na papiru za filtriranje u znatnoj mjeri zavise od količine dušikovih oksida, pa se na osnovu toga dobivaju različite reakcijske slike.

Djelovanjem viška reagensa mrlja otop. b. na papiru za filtriranje oboji se narančastocrveno, a boja zatim prijeđe u svijetlo žutu. S manje reagensa dobiva se najprije modra boja.

Ako se nakon djelovanja reagensa papir izloži vodenim parama, intenzitet žute boje znatno se pojača. U parama amonijaka žuta boja mrlje ubrzo prijeđe gotovo u crnu. Kad se papir zatim ukloni iz para amonijaka, boja se stajanjem mijenja u tamno crvenu. Pri izvođenju reakcije s otop. b. u 96% octenoj kiselini, pokazalo se, da se prolazno dobiva i zelena boja.

Podaci provedenih ispitivanja navedeni su u tablici II.

Tablica II.

Otopalo	NO ₂
96% C ₂ H ₅ OH	rub — modar pa crvenosmeđ, zatim mrlja crvenosmeđa i napokon svijetlo žuta
96% CH ₃ COOH	mrlja — modra, zelena, zatim boja rđe i napokon svijetlo žuta
30% CH ₃ COOH	mrlja — modra, narančastocrvena i napokon svijetlo žuta
2% HCl	mrlja — zelenožuta, zatim svijetlo žuta

nakon toga — u vodenim parama: boja mrlje prijeđe u intenzivno žutu
 zatim u parama amonijaka: mrlja postane gotovo crna pa ljubičasto
 crvena
 izvan para amonijaka i stajanjem, boja mrlje prijeđe u tamno crvenu.

Iz tablice II se vidi da do stvaranja produkta modre boje dolazi uglavnom u neutralnim otopinama i u otopinama u octenoj kiselini, a tok reakcije da zavisi od vremena zlaganja parama reagensa. Ujedno se pri ovim ispitivanjima pokazalo, da se produkt žute boje može mijenjanjem pH prevesti u produkte crne i crvene boje.

Prema tome mogu se s kapi otop. b. na papiru za filtriranje, mijenjanjem uvjeta pri reakciji, dobiti uglavnom svi obojeni oksidacijski produkti benzidina navedeni u literaturi.

Reakcija s cijanovodikom

Ispitivanja ove reakcije vršili smo najprije s otop. b. u epruveti, a kao reagens upotrebili smo otop. kupri-sulfata uz dodatak otop. kalijeva cijanida i otdn. kalijeva jodida. Otopine kupri-sulfata dodavali smo 1 kap, a otopine kalijeva cijanida i otdn. kalijeva jodida 1—2 kapi. Podaci ovih ispitivanja uvršteni su u tablicu I.

Kad se otopini b. u octenoj ili klorovodičnoj kiselini doda samo otopine kupri-sulfata, izluči se bijel talog benzidinova sulfata. Kad se pak otopini b. u etanolu doda ovog reagensa, izluči se crvenosmeđ talog. Prema Borzellu (43) i Kuhlbergu (11), koji posljednji izvodi reakciju s otopinom b. u acetnu, izlučeni talog crvene boje je kompleksna sol (Cu-benzidin)SO₄.

Pri daljnjim ispitivanjima postupali smo tako, da smo na papir za filtriranje stavili kap otop. CuSO₄ i na nju oko 0,01 ccm otopine b. Papir smo zatim stavili na otvor epruvete, u kojoj se razvijao HCN i prekrili stakalcem od sata. Podaci ovih ispitivanja navedeni su u tablici III.

Prema Tananajevu (12) oksidacija benzidina spomoću kupri-iona uspijeva lako uz amonijak ili uz dodatak alkalija. No naša su ispitivanja pokazala da se u parama amonijaka boja uglavnom gubi, a kad se papir zatim stavi u vodene pare, mrlja se oboji prljavo smeđe (tablica III).

Tablica III.

Otopalo	HCN
96% C_2H_5OH	mrlja — tamno modra
96% CH_3COOH	mrlja — nejednoliko modra, rub — ljubičast, između ruba i mrlje gotovo bezbojna zona
30% CH_3COOH	mrlja — modra, prema sredini često gotovo bezbojna s ljubičastim rubom
2% HCl	mrlja — gotovo bezbojna s ljubičastim, pa modrim i napokon žutim rubom

nakon toga — u parama amonijaka: boja mrlje i ruba se gubi
zatim u vodenim parama: mrlja prljavo smeđa.

Od preispitanih reakcija za dokazivanje benzidina i predloženih modifikacija osobito su prikladne:

Reakcija kapi 0,5—1% otop. b. u 96% octenoj kiselini na papiru za filtriranje s dušikovim oksidima:

mrlja — modra, zelena, boje rđe i konačno svijetlo žuta,
zatim u vodenim parama — intenzivno žuta,
nakon toga stajanjem — tamno crvena.

Reakcija otop. b. (0,5—1 ccm) u 2% klorovodičnoj kiselini s razr. otop. joda (1—2 kapi):

boja — prljavo zelena,
dodatkom natrijeva acetata — modar talog,
razrjeđivanjem s vodom (15—20 ccm) — modar talog, koji se skupi
na površini; tekućina bezbojna,
uz više otopine joda — smeđ talog.

Zaključak

Preispitane su reakcije identiteta benzidina navedene u literaturi kao i različite reakcije, pri kojima benzidin služi kao reagens, pa se za neke od njih predlažu modifikacije.

Predložene modifikacije izводе se s kapi otopine benzidina na papiru za filtriranje, upotrebivši reagens u obliku para i to dušikove okside, cijanovodik.

Postupak: 1 kap (cca 0,02 ccm) otopine stavi se pomoću pipete na papir za filtriranje (Schleicher i Schüll br. 598) tako, da se vrh pipete prisloni na papir i tekućina polako otpusti. Papir se zatim izloži djelovanju reagensa na grlo epruvete, u kojoj se reagens razvija.

Uz ove uvjete može se pri reakciji s dušikovim oksidima obuhvatiti produkt modre, zelene, crne, žute, smeđe i svijetlo crvenosmeđe boje odn. boje rđe, dok se kod postupaka opisan u literaturi radi uglavnom o prevođenju benzidina u t. zv. benzidinsko modrilo.

Reakcije su vršene sa 0,5—1% otop. b. u 2% klorovodičnoj kiselini, 96% i 30% octenoj kiselini, 96% etanolu, a podaci provedenih ispitivanja navedeni su u tablici I—III.

On the identification of benzidine (I)

On the reactions of benzidine by means of nitrous oxides, hydrogen cyanide and some other reagents

by V. Vukčević-Kovačević and T. Bičan-Fišter

Summary

Reactions for identification of benzidine described in literature and various reactions where benzidine is used as reagent have been examined. For some of these reactions modifications are proposed.

The suggested modifications are carried out with a drop of a solution of benzidine (sol. b.) on a piece of filter-paper using nitrous oxides and hydrogen cyanide as reagents.

Procedure: One drop (cca 0,02 cc) of the sol. b. is placed on a piece of filter-paper from a pipette by holding the tip of the pipette close to the paper. The spot is thereupon exposed to the vapor of the reagent.

Under these conditions various phases of the reaction of benzidine with nitrous oxides can be obtained (the blue, green, black, yellow, brown and the light reddish-brown product), whereas by most reactions cited in literature only »benzidine blue« is obtained.

Examinations have been carried out with 0,5—1% sol. b. in 2% hydrochloric acid, 96% and 30% acetic acid, 96% alcohol.

Reaction with nitrous oxides. The reagent is prepared in a testing tube by adding diluted hydrochloric acid to sodium nitrite.

It is found that a very distinct reaction is obtained with sol. b. in acetic acid. The spot of the sol. b. on the filter paper becomes first blue then green, light reddish brown and finally light yellow in color.

Due to the swift changes of the colors from one to another, it is advisable to hold the paper in some distance above the mouth of the testing tube in which nitrous oxides are evolved.

It is found that by this reaction the first phase is not the blue but the green color if mineral acid is present (sol. b. in hydrochloric acid).

Reaction with hydrogen cyanide. Our examinations have shown that the reaction can be performed by using cupric sulfate instead of cupric acetate (Feigl) as reagent.

Procedure: One drop (cca 0,02 cc) of the solution of cupric sulfate (1 + 49) is dropped on a piece of filter paper and on this spot a smaller drop (0,01 cc) of sol. b. is placed. The paper is then placed on the mouth of the testing tube in which hydrogen cyanide is evolved. It is advisable to cover the paper with a small watch glass.

The reagent is prepared in a testing tube by adding diluted sulfuric acid and a few crystals of potassium permanganate to 1—2 cc of a concentrated solution of ammonium thiocyanate in water and warming the mixture.

On exposing to hydrogen cyanide the spot of the sol. b. in alcohol turns blue; the spot of the sol. b. in acetic acid also becomes blue, but in the center it is often colorless, and is surrounded by a violet border; the spot of the sol. b. in hydrochloric acid remains colorless and is surrounded by a border first violet then blue

and finally yellow in color. When after exposing to hydrogen cyanide the paper is exposed to the vapor of ammonia, the spot becomes colorless to change into brownish in the vapor of boiling water.

On base of our examinations following modifications seem to be very suitable for the identification of benzidine:

1. The reaction performed with a drop of a 0,5—1% solution of benzidine in 96% acetic acid on a piece of filter paper using nitrous oxides as reagent:

by exposure to nitrous oxides — the spot becomes blue then green, reddish brown and finally light yellow in color,

thereupon to the vapor of boiling water — the color of the spot becomes intensely yellow,

then on standing — the color of the spot turns dark red.

2. The reaction of a 0,5—1% solution of benzidine in 2% hydrochloric acid (0,5—1 cc) using a diluted solution of iodine (1—2 drops) as reagent:

the liquid becomes dirty green in color,

on adding sodium acetate — a blue precipitate is formed,

on diluting with water — blue precipitate on the surface of the colorless liquid,

on adding more sol. of iodine — the color of the precipitate turns dark brown.

(From the Institute for Pharmaceutical Chemistry at the Faculty of Pharmacy, Zagreb).

Literatura — References

1. Schlenk, A. 363, 313 (1908) — cit. C. 1909, I, 179. — 2. F. Feigl, Qualitative Anal. m. H. v. Tüpfelreakt. 1938, 170. — 3. 2 l. c. 237. — 4. F. Feigl, Mikrochemie 12, 134 (1933). — 5. 2 l. c. 469. — 6. F. Feigl i L. Badian, 2 l. c. 341. — 7. D. Vitali, Bull. chim. pharm. 38, 201 (1899) — cit. C. 1899, I, 1083. — 8. 2 l. c. 311. — 9. F. Feigl i F. Neuber, Z. anal. Ch. 62, 375 (1923). — 10. A. Tettamanzi, Atti R. Acad. Sci. (Torino) 69, I, 197 — cit. C. 1935, I, 114. — 11. L. Kuhlberg, Mikrochemie, 20, 153 (1936). — 12. N. A. Tananajev, Z. anorg. allg. Ch. 140, 323 (1924). — 13. J. Moir, Chem. News, 102, 17 (1910) — cit. C. 1910, II, 688. — 14. 2 l. c. 298 — 15. 2 l. c. 453. — 16. 2 l. c. 304. — 17. N. P. Maletzky i M. T. Koslowsky, Mikrochemie 7, 96 (1929). — 18. F. Feigl i L. Badian, 2 l. c. 376. — 19. F. Feigl i E. Franckel, B. 65, 545 (1932). — 20. 2 l. c. 408. — 21. A. S. Komarowsky i N. S. Poluetkoff, Mikrochemie 19, 66 (1935) — cit. 2 l. c. 197. — 22. F. Feigl, Z. anal. Ch. 61, 454 (1922). — 23. F. Feigl, i P. Krumholz, Mikrochemie, Pregl's Festschrift, 1929, 82 — (cit. C. 1929, II, 72). — 24. K. Nosaka Mikroch. Acta 1, 78 (1937) — cit. 2 l. c. 453. — 25. P. Wilkinson i E. Peters, Ztschr. f. Unters. Nahrungs- u. Genussmittel 16, 172 — cit. C. 1908, II, 987. — 26. G. Denigès, Bull. Soc. Pharm. (Bordeaux) 1906, Dez. — cit. Merck's Reagenzienverzeichnis, 1932, 135. — 27. F. Feigl Qualitative Anal. m. H. v. Tüpfelreakt. 1938. — 28. Ph. Helv. 1039. — 29. P. Julius, M. 5, 193 (1884). — 30. J. Barsilowsky, Jour. russ. phys. chem. Ges. 37, 337 (1905) — cit. C. 1905, I, 1706. — 31. W. Müller, B. 35, 1587, (1902). — 32. G. Saget Mon. Scient. (4), 16, II, 655 — cit. C. 1902, II, 897. — 33. F. Feigl i R. Stern, Z. anal. Ch. 60, 1 (1921). — 34. W. Vaubel, Ch. Z. 25, 739. — 35. F. Vieböck, Analysengang z. Erkennung v. Arzneimitteln, 1943, 102. — 36. W. Vaubel i O. Scheuer, Z. f. Farbind. 5, 61 /15/2/ — cit. C. 1907, I, 936. — 37. M. Kolthoff, Die Massanalyse 1927, 78. — 38. A. Claus i E. Riesler, B. 14, 82 (1881). — 39. Griess, Proc. Roy. Soc. London 12, 418; 13, 382 — cit. Beilstein, 13, 215. — 40. E. Erdmann, Z. anorg. Ch. 6, 163 (1893). — 41. Primot, Bull. d. Scien. pharmacol. 19, 546 — cit. C. 1912, II, 1946. — 42. C. Arnold i C. Mentzel, Ch. Z. 1902, Rep. 130 — cit. C. 1902, I, 1149. — 43. 11 l. c. 153.