

DOKAZIVANJE KARBOKSILNIH GRUPA U MAKRO-MOLEKULARNIM SPOJEVIMA POMOĆU DIAMINSKE REAKCIJE

Mladen Krajčinović

U jednom od svojih ranijih radova¹⁾ dokazao sam eksperimentalno, da se na karboksilne grupe oksiceluloze mogu adicijom vezati aromatski diamini. Nakon diazotacije preostale slobodne aminogrupe i pripajanja dobivenog diazospoja na β -naftol odnosno druge razvijae dobivaju se karakteristična obojenja. Na osnovi tih eksperimentalnih činjenica izrađena je kvalitativna reakcija za dokazivanje oksiceluloze pod imenom diaminske reakcije. Pomoću te reakcije može se pouzdano razlikovati oksiceluloza od hidroceluloze i nativne celuloze.

Istu diaminsku reakciju mogao sam uspješno primijeniti za dokazivanje i raspoznavanje oksidiranih škrobova²⁾ kao i oksidacijom modificiranog inulina i lihenina. Diaminskom se reakcijom može dokazati, dakle, ne samo oksiceluloza nego i drugi oksidacijom karboksilirani polisaharidi za razliku od istih spojeva u nativnom stanju.

U daljnjem preciziranju kvalitativne reakcije izrađena je metoda, kojom se kvantitativno određuje količina vezanog diamina odnosno benزيدina tako, da se na taj način može ocijeniti i stepen oksidacije. Dobiveni rezultati izražavaju se benزيدinskim brojem³⁾, koji označava miligrame benزيدina što ih veže oksidacijom modificirani polisaharid. Benزيدinski broj proporcionalan je količini karboksilnih grupa u oksidiranim polisaharidima.

U ovom radu pokušao sam da proširim aplikaciju diaminske reakcije na dokazivanje onih prirodnih makromolekularnih spojeva, koji sadržavaju karboksilne grupe već u nativnom stanju. Prve takve identifikacije izveo sam na pektinima, voskovima i smolama.

Eksperimentalno sam mogao zaista utvrditi da pektini daju izrazito pozitivnu diaminsku reakciju, dok svi makromolekularni spojevi, kao što je celuloza, škrob, inulin, lihenin i dr., koji dolaze u biljnom materijalu, a ne sadržavaju karboksilnih grupa u nativnom stanju, ne pokazuju diaminsku reakciju.

Ta činjenica je od velikog praktičkog značenja, jer se može pretpostaviti, da će se diaminska reakcija moći aplicirati i kao mikrokemijska reakcija za dokazivanje i raspoznavanje pektina kod histološkog proučavanja razvoja biljnih organa. To je od naročite važnosti i zbog toga, što do danas ne poznamo neki drugi specifični reagens. za pektine.

Pčelinji, karnauba i drugi voskovi kao i smole, koje sadržavaju makar i male količine slobodnih visokomolekularnih karbonskih kiselina, adiraju također diamine posredovanjem svojih karboksilnih grupa. Nakon odgovarajuće obrade pojavljuje se kod tih voskova i smola karakteristično obojenje za razliku od parafina i drugih neutralnih neosapunjivih materija, koje ako se obrade na isti način ostaju potpuno bezbojne. Diaminska reakcija može prema tome da posluži za kvalitativno dokazivanje svih voskova, voštanih materija i smola, koje uz ostale sastojine sadržavaju i slobodnih karbonskih kiselina. Obzirom na do sada izvršene eksperimentalne radove može se pretpostaviti, da će se diaminska reakcija moći primjenjivati i za naučno istraživačke biološke radove. Među ostalim smatramo, da je moguće tu reakciju primjeniti u prilagođenom obliku za dokazivanje i identifikaciju svih onih mikroorganizama (bakterija), koji na svom tijelu nose voštane prevlake odnosno takve makromolekularne spojeve, koji sadržavaju u nativnom stanju otvorene karboksilne grupe.

EKSPERIMENTALNI DIO

Specifičnost diaminske reakcije za pektinske materije mogao sam dokazati na osnovi izvršenih pokusnih bojenja, koja su izvršena usporedno i uz iste uslove na celulozi, škrobu, inulinu, liheninu i agaru (pektinu), i to sa safraninom, metilenskim plavilom, i rutenijskim crvenilom. Za bojenje su upotrebljene vodene otopine tih boja u razrjeđenju 1 : 5.000. Diaminska reakcija je izvedena sa m/1000 vodenom otopinom benzidina. U tako priređene otopine boja i reagensa stavljena je celuloza, škrob, inulin, lihenin i agar. Pojedini uzorci tih makromolekularnih spojeva ostavljeni su u otopinama 20 minuta kod obične temperature. Nakon toga su obojeni uzorci isprani hladnom vodom, a uzorci koji su bili u benzidinskoj otopini, obrađeni su dalje diazotacijom i razvijeni dodatkom β -naftola.

Postignuti rezultati obojenja prikazani su u slijedećoj tablici:

Iz podataka u tablici 1 vidimo, da rutenijsko crvenilo kao i bazične boje safranin i metilensko plavilo boje jače ili slabije celulozu, škrob, inulin, lihenin kao i pektinske tvari u agaru. Primjenom diaminske reakcije spomenuti polisaharidi u nativnom stanju ne pokazuju obojenje. Pektinske materije, koje posredovanjem svojih karboksilnih grupa vežu benzidin, oboje se primjenom diaminske reakcije.

Za izvođenje diaminske reakcije na voskovima i smolama upotrebio sam alkoholnu odnosno alkoholno-eternu otopinu benzidina. U svrhu usporedbe izvdšio sam diaminsku reakciju

Tablica 1

	Rezultat bojenja sa:			Diaminskom reakcijom:
	Safraninom	Metilenskim plavilom	Rutenijskim crvenilom	
Celuloza	+	+	+	—
Škrob	+	+	+	—
Inulin	+	+	+	—
Lihenin	+	+	+	—
Agar	+	+	++	++

Tablica 2

	Voskovi		Smole			Neosapunjive materije: parafin
	pčelinji	karnauba	damar	sandarak	mastix	
Diaminska reakcija	+	+	+	+	+	—

jednako i na parafinu. Postignuti rezultati obojenja prikazani su u tablici 2.

ZAKLJUČAK

Ovim je radom dokazano, da se diaminska reakcija može upotrebiti u nešto prilagođenom obliku za dokazivanje makromolekularnih spojeva, što sadržavaju slobodne karboksilne grupe u nativnom stanju, kao što su na pr.: pektinske tvari, voskovi i smole. Te materije moguće je diferencirati diaminskom reakcijom od drugih makromolekularnih neutralnih spojeva.

Obzirom na već izvršene pripremne radove utvrđeno je, da će se diaminska reakcija moći upotrebiti u prilagođenom obliku i kao mikrokemijska reakcija za dokazivanje pektinskih tvari pri histološkim istraživanjima staničnih membrana, te nadalje pri proučavanju sastava i determinaciji lipoidnih ovojnica kod

nekih mikroorganizama (kao na pr. kod acidorezistentnih bakterija). Metodika mikrokemijske diaminske reakcije bit će objavljena neposredno u vezi sa rješavanjem konkretnih histoloških i mikrobioloških problema.

LITERATURA

- 1) Krajčinović Mladen: Disertacija, Zagreb, 1947. Arhiv za kemiju 18, 44—65 (1946); Journal of the Textile Institute, 38, T 11, (1947).
- 2) Krajčinović Mladen: Experientia, 4, 271 (1948); Arhiv za kemiju, 19, 104—109 (1947).
- 3) Krajčinović Mladen: Arhiv za kemiju, 19, 101—104 (1947).

ZAVOD ZA ORGANSKU KEMIJSKU TEHNOLOGIJU
TEHNIČKI FAKULTET
ZAGREB

Primljeno 8. rujna 1948.

ABSTRACT

The application of the diamino reaction for the determination of some macromolecular substances, which contain carboxyl groups

by

Mladen Krajčinović

The diamino reaction in a modified form is applied for the determination of pectins, resins and wax, which contain in their native state free carboxyle groups. Those determinations might be of some use in hystological and microbiological determinations.

INSTITUTE OF THE ORGANIC TECHNOLOGY
TECHNICAL FACULTY
ZAGREB (CROATIA)

[Received, September 8, 1948]