

Beiträge zur Mikrojodbestimmung.

Von **Gulbrand Lunde, Karl Closs** und **Jens Bøe**.

(Aus dem Pharmakolog. Institut der Universität Oslo, Norwegen.)

(Eingelangt am 2. Juli 1929.)

I. Über die Veraschung der Substanz und die Anreicherung des Jods, besonders bei dem v. Fellenberg'schen Jodbestimmungsverfahren.

(Von **Gulbrand Lunde** und **Karl Closs**.)

Einleitung. Bei der quantitativen Bestimmung geringer Jodmengen, wie sie in tierischen, pflanzlichen und mineralischen Stoffen vorkommen, kommt es darauf an, das gesamte in der zu untersuchenden Substanz vorhandene Jod in eine Form überzuführen, in der es sich einheitlich und quantitativ mit den für die Bestimmung dienenden Reagenzien umsetzt. Als solche Form kommt praktisch nur das anorganisch gebundene Jod in Frage.

Ein Teil des Jods ist nun gewöhnlich so fest an die organische Substanz gebunden, daß es nicht gelingt, diesen Teil selbst durch ziemlich kräftig wirkende Mittel quantitativ in anorganisch gebundenes Jod überzuführen. Es ist deshalb notwendig, die organische Substanz vollständig zu zerstören, auch deshalb, weil ihre Gegenwart die Nachweisreaktionen stört. Es ist selbstverständlich, daß diese Zerstörung unter Bedingungen vorgenommen werden muß, unter denen keine Jodverluste eintreten. Dies wird erreicht durch Anwendung eines der folgenden Verfahren:

1. Verbrennung der Substanz, eventuell unter Zusatz von wenig Kalk im Sauerstoffstrom, und Auffangen der Verbrennungsprodukte in einer alkalischen Flüssigkeit (McCLENDON¹), v. FELLEBERG²), SCHWAIBOLD³), REITH⁴)). Das Verfahren ist theoretisch einwandfrei, hat aber den Nachteil, daß es zeitraubend ist; außerdem kommt es für Massenanalysen frischen Materials überhaupt nicht in Frage.

2. Die Substanz wird an der Luft bei mäßig hoher Temperatur bei Gegenwart eines Alkaliüberschusses verbrannt, ohne Zusatz

¹) J. F. McCLENDON, Journ. biol. Chemistry 60, 289 (1924); Physiol. Rev. 7, 189 (1927); Journ. Amer. chem. Soc. 50, 1093, 1928; 51, 394, 1929.

²) TH. v. FELLEBERG, Mikrochemie 7, N. F. 1. 242, 1929, vergl. besonders Seite 262—263.

³) J. SCHWAIBOLD, Chem.-Ztg., 53, 22 (1929).

⁴) J. F. REITH, Rec. Trav. chim. Pays Bas, 48, 254 (1929).

eines Oxydationsmittels nach CHATIN⁵⁾, KENDALL^{5a)} und v. FELLEBERG⁶⁾ oder auch mit einem Oxydationsmittel. Hierbei wird alles Jod in Jodid übergeführt. Die Hauptschwierigkeit dieses Verfahrens besteht in der Regulierung der Temperatur. Bei zu hoher Temperatur treten Jodverluste ein, während bei zu niedriger Temperatur die Substanz nicht ganz zerstört wird.

3. Man verwendet feuchte Verbrennung in schwefelsaurer Lösung und fängt das entweichende Jod in einer alkalischen Flüssigkeit auf (GAUTIER⁷⁾, WILKE-DÖRFURT⁸⁾, PFEIFFER⁹⁾).

In den allermeisten Fällen ist die Konzentration des Jods in dem angewendeten Material so gering, daß keine Reaktion empfindlich genug ist, einen Nachweis in dieser Verdünnung zu gestatten. Das Jod muß daher erst angereichert werden, bevor die eigentliche Bestimmung vorgenommen werden kann. Es ist aber auch notwendig, es von allen Begleitstoffen möglichst weitgehend zu befreien, damit eine einwandfreie Bestimmung gewährleistet ist.

Die Veraschung der organischen Substanz bei freiem Luftzutritt, wie sie v. FELLEBERG (l. c.) bisher fast ausschließlich verwendet hat, ist für Serienanalysen, besonders von frischem organischen Material, zweifellos am geeignetsten.

Dieses Verfahren ist wohl deshalb auch das am häufigsten verwendete. Die Handhabung ist aber nach der v. FELLEBERG'schen Originalvorschrift selbst für den Geübteren recht schwierig, was v. FELLEBERG selbst stets zugegeben hat¹⁰⁾.

Die Hauptschwierigkeit liegt darin, daß der Analytiker die Fehler, die er bei der Ausführung der Bestimmung macht, erst am Schlußresultat der Analyse erkennt. Bei der Bestimmung unbekannter Jodmengen muß man sich vor allem davor hüten, in der Übereinstimmung zweier Parallelanalysen einen Beweis für die Richtigkeit dieser Bestimmung zu sehen. Analysen unter Zusatz von bekannten Mengen Kaliumjodid, wie sie von verschiedenen Forschern als Kontrollmittel angewendet werden, bieten, wie der eine von uns (K. CLOSS) wiederholt gefunden hat, ebensowenig

⁵⁾ A. CHATIN, *Compt. rend. Acad. Sciences*, 30, 352 (1850); 82, 128 (1876).

^{5a)} E. C. KENDALL, *Journ. biol. Chem.*, 40, 265 (1919); 43, 149 (1920).

⁶⁾ v. FELLEBERG, *Ergebn. der Physiol.*, 25, 176—363 (1926).

⁷⁾ A. GAUTIER, *Compt. rend. Acad. Sciences*, 128, 643, 1069 (1899).

⁸⁾ E. WILKE-DÖRFURT, *Ztschr. angew. Chem.*, 40, 1478 (1927).

⁹⁾ G. PFEIFFER, *Biochem. Ztschr.*, 195, 128 (1928).

¹⁰⁾ TH. v. FELLEBERG, *Mikrochemie*, 7 (N. F. 1), 262 (1929).

eine Gewähr für die Richtigkeit der Ausführung. Nur durch Wiederholung der Verbrennung unter ständiger Abänderung der Bedingungen kann man über die gemachten Fehler klar werden und die Bedingungen ausfindig machen, unter denen die Analyse in allen Fällen zuverlässige Resultate liefert. Diese Bedingungen sind je nach der Art des untersuchten Materials verschieden. Wir wollen hier die von uns im Laufe der letzten Jahre bei der Untersuchung des verschiedenartigsten tierischen und pflanzlichen Materials gesammelten Erfahrungen wiedergeben.

Wir waren hauptsächlich danach bestrebt, die Methode möglichst weitgehend zu schematisieren, damit sie auch von weniger geübten Jodanalytikern mit Erfolg verwendet werden kann.

Der Gang der Analyse gestaltet sich wie bei v. FELLEBERG, und die folgenden Ausführungen sollen nur eine Ergänzung und Schematisierung der v. FELLEBERG'schen Originalvorschrift darstellen.

Der Gang der Analyse.

1. Die Zerstörung der organischen Substanz.

a) Das Auflösen des Materials. Um eine gute Durchschnittsprobe des zu untersuchenden organischen Materials zu erhalten, wird eine etwas größere Menge folgendermaßen in Lösung gebracht: Die gewogene Probe versetzt man mit einem Stückchen Ätzkali und wenig Wasser und erwärmt solange auf dem Wasserbade, bis vollständige Lösung eingetreten ist. Die zugesetzte Menge Ätzkali soll etwa 25 bis 50% vom Gewicht der Probe betragen. Die Zugabe von wenig Alkohol beschleunigt die Auflösung. Bei fettreichem Material muß man mehr Alkohol anwenden und häufig umschütteln. Fette und Öle werden mit alkoholischem Kali verseift.

Eiweißreiche Substanzen bilden bei der nachfolgenden Verbrennung reichlich Kohle, außerdem Blausäure und Ammoniak. Alle diese Stoffe stören die Bestimmung des Jods¹¹⁾.

¹¹⁾ Vergl. TH. v. FELLEBERG (l. c.) über den störenden Einfluß des Ammoniaks; G. LUNDE und TH. v. FELLEBERG, *Ztschr. anorg. allg. Chem.*, 165, 234 (1927), über die Adsorption des Jods an Kohle und Kieselsäure. M. GUERBERT, *Journ. Chim. Phys.*, 17, Nr. 7 (1903), sowie J. CURTMAN und C. KAUFMAN, *Journ. Amer. chem. Soc.*, 40, 914 (1918), weisen auf den störenden Einfluß der Cyanide hin.

Es ist daher ratsam, beim Auflösen mehr Kalilauge als gewöhnlich zu verwenden (bis zum Vierfachen vom Gewicht der Probe). Der Zusatz von mehr Kalilauge hat folgende Vorteile:

1. Er bewirkt, daß die Masse beim Erhitzen zum Schmelzen kommt.

2. Er verhindert oder vermindert die Abscheidung von Kohle, indem die Kalilauge mit der Kohle unter Bildung von Karbonat reagiert.

3. Er bewirkt die Zersetzung von Cyaniden und Ammoniumsalzen.

Zellulose, Chitin und ähnliche Verbindungen werden erst beim Schmelzen mit Ätzalkalien zersetzt. Will man in ihnen Jod nachweisen, so muß die alkalische Lösung zur Trockne verdampft werden und dann über freier Flamme unter stetigem Umschwenken zum Schmelzen erhitzt werden. Unter starker Gasentwicklung wird die Substanz zersetzt und läßt sich dann in Wasser auflösen. In derselben Weise verfährt man mit kieselsäurereichem Material.

Ist die Probe dagegen kalkreich, so muß sie entweder erst mit Lauge und dann mit Salzsäure, oder besser, erst mit Salzsäure (am Rückfluß) und dann mit Kalilauge behandelt werden. Genauere Vorschriften für die Bestimmung des Jods in solchen kalkreichen Proben werden weiter unten gegeben.

b) Das Veraschen. Ein aliquoter Teil des gelösten Materials (entsprechend zirka 1 g frischer Substanz) wird in eine Eisenschale (besser eine V2A-Schale von Krupp) gebracht, mit 1 bis 2 ccm etwa 50%iger Pottaschelösung versetzt und auf dem Wasserbade soweit als möglich eingedampft. Fast immer enthält der Eindampfrückstand noch etwas Wasser; man muß daher sehr vorsichtig sein, wenn man nun mit dem Erhitzen über freier Flamme beginnt. Man vermeidet lästiges Spritzen dadurch, daß man im ersten Augenblick mit sehr starker Flamme erhitzt, damit das Wasser aus den unteren Schichten ausgetrieben wird, ehe die ganze Salzmasse zusammengebacken ist. Sobald die Masse anfängt, harte Krusten zu bilden, stellt man den Brenner rasch ganz klein und steigert dann erst ganz allmählich die Temperatur wieder bis auf etwa 450 bis 500°. Das Spritzen ist besonders lästig bei Proben, die viel Chloride oder Sulfate enthalten; bei der Untersuchung von sauren Aufschlüssen ist daher besondere Vorsicht geboten.

Schließlich erhitzt man die Substanz etwa zehn Minuten lang bei 450 bis 500° und prüft dann, ob der bei der Verbrennung auftretende Geruch verschwunden ist. Gegebenenfalls setzt man das Erhitzen solange fort, bis der Geruch auf alle Fälle nur noch ganz schwach ist. Es ist gut, die Schale etwas schief zu stellen, damit sich ein Luftstrom ausbilden kann, der die Verbrennungsgase mitreißt. Man muß darauf achten, daß an keiner Stelle Überhitzung eintritt.

Ist der Verbrennungsgeruch fast oder ganz verschwunden, so schreckt man die Schale in kaltem Wasser ab und löst den Inhalt in wenig Wasser. Haben sich Kohleklumpen gebildet, so müssen diese mit einem Pistill verrieben werden. Sind die Salzkrusten während der Verbrennung sehr hart geworden, so muß man nochmals 1 bis 2 ccm Pottaschelösung zusetzen, ehe weiter verbrannt wird. Dann dampft man wieder ein. Um Zeit zu sparen, kann man dieses Eindampfen über freier Flamme vornehmen (oder auf dem Sandbad). Sobald das Eintrocknen beginnt, muß man durch Einhaltung der oben beschriebenen Vorsichtsmaßregeln mögliches Spritzen verhindern. Man erhitzt dann wieder auf 450 bis 500° und fährt solange mit dem Erhitzen fort, bis der Geruch verschwunden ist. Dann wird die Schale wieder abgeschreckt, der Inhalt in wenig Wasser aufgelöst, die Kohleklumpen zerrieben, wieder zur Trockne verdampft und wieder bis zum Verschwinden des Geruchs erhitzt.

Wenn nach dreimaliger Verbrennung die gebildete Kohle immer noch nicht verbrannt ist, setzt man reichlich Wasser zu (etwa 50 ccm), läßt kurze Zeit stehen, saugt dann von der Kohle durch ein kleines Filterchen ab, wäscht zweimal mit etwa 10 ccm Wasser nach und saugt dann noch einige Zeit kräftig, um die Hauptmenge der Flüssigkeit aus der Kohle herauszusaugen. Dann bringt man die Kohle mitsamt dem Filterchen in die Eisenschale zurück, spült alle im Trichter haftenden Reste nach, verdampft zur Trockne und verbrennt alles bei schwacher Rotglut. Nun gießt man das Filtrat in die erkaltete Schale zurück, dampft wieder zur Trockne ein und erhitzt bis zum Verschwinden des Geruchs, wie oben beschrieben. Manchmal muß das Erhitzen noch ein zweites Mal vorgenommen werden.

Die Seifen von tierischen Fetten und Ölen verbrennen im allgemeinen sehr schwer. Das Filtrat von der Kohle ist in solchen Fällen häufig dunkelbraun bis schwarz. Bei der nachherigen Ver-

brennung tritt wieder Kohlebildung auf. Die Kohle wird wieder abfiltriert und für sich verbrannt. Es ist ratsam, bei fetten Substanzen:

1. mit der Temperatur so hoch zu gehen, wie überhaupt zulässig, ohne Jodverluste befürchten zu müssen,

2. zum Entfernen der Kohle entweder ein Oxydationsmittel (Na NO_3) oder etwas Ätzkali zuzusetzen.

Die Verbrennung der organischen Substanz kann nur dann als vollständig angesehen werden, wenn die Salzmassen nach dem Veraschen reinweiß oder durch Beimischung von Ferrioxyd hellrotbraun gefärbt sind. Alle grauen Töne deuten auf unvollständige Verbrennung.

2. Die Anreicherung des Jods und die Zerstörung der letzten Spuren organischer Substanz.

a) Die Alkoholextraktion. Nachdem sich die Schale abgekühlt hat, gibt man etwa 2 bis 3 ccm 96%igen Alkohol auf die Salzmasse, setzt einige Tropfen Wasser zu und läßt dann mindestens zehn Minuten stehen. (Die Schale soll mit einem Uhrglas bedeckt werden.) Dabei wird die Salzmasse aufgeweicht. Dann verreibt man solange mit einem Achatpistill, bis sich ein gleichmäßiger, dickflüssiger Salzbrei gebildet hat und an keiner Stelle mehr Salzkrusten an der Schale haften. Sollte letzteres der Fall sein, so werden die Krusten durch vorsichtiges Zutropfen von Wasser (oder auch Pottaschelösung) und erneutes Verreiben aufgelöst.

Jetzt wird der Alkohol durch Dekantieren in eine etwa 5 cm weite Goldschale mit flachem Boden übergeführt¹²⁾. Zu diesem Zweck wird der Rand der Eisenschale außen mit etwas Vaseline bestrichen und der Rand der Goldschale an einer Stelle nach innen gebogen (nicht geknickt!). Bringt man nun die eingebogene Stelle der Goldschale zur Berührung mit dem inneren Rand der Eisenschale, so gelingt es durch Neigen der Schalen gegeneinander, den Alkohol ohne Verluste in die Goldschale überzugießen. Die Extraktion wird mindestens dreimal wiederholt.

b) Die erste Verbrennung in der Goldschale.

¹²⁾ Goldschalen werden von uns an Stelle von Platinschalen verwendet. Sie haben den Vorzug der relativen Billigkeit, müssen aber sehr vorsichtig behandelt werden.

Man setzt zu der alkoholischen Lösung in der Goldschale etwa fünf Tropfen 50%ige Pottaschelösung und soviel Wasser, daß sich eine homogene Lösung bildet, und dampft auf dem Wasserbade zur Trockne ein. Der Wasserzusatz bewirkt, daß das Eindampfen auf dem Wasserbade langsamer und ruhiger verläuft und daß die gelösten Salze sich ausschließlich auf dem Boden der Schale absetzen.

Nach beendigtem Eindampfen erhitzt man die Schale vorsichtig über einer kräftigen, nichtleuchtenden Bunsenflamme. Man muß dafür Sorge tragen, daß alle Teile der Schale gleichmäßig, aber nicht zu stark ausgeglüht werden; dies wird durch stetes Hin- und Herbewegen erreicht, so daß die Schale jeweils nur kurz in die Flamme kommt. Während des Erhitzens löst sich meistens ein Teil der Salze vom Boden ab und kann so nicht ordentlich ausgeglüht werden. Man kühlt daher die Schale ab, löst den Inhalt in ein paar Tropfen Wasser, verdampft zur Trockne und glüht wieder vorsichtig. Es muß solange mit dem abwechselnden Glühen und Auflösen fortgefahren werden, bis die Salze beim Eindampfen den Boden der Schale mit einem gleichmäßigen Überzug bedecken und reinweiß geworden sind.

c) Die Alkoholextraktion in der Goldschale. Man läßt erkalten, fügt etwa 2 ccm 96%igen Alkohol und ein bis zwei Tropfen Wasser zu, verreibt mit dem Pistill, bis sich ein gleichmäßiger Salzbrei gebildet hat, führt den alkoholischen Auszug durch Dekantieren in eine andere Goldschale, oder besser, in eine Gold-Platinschale (90% Au, 10% Pt) über und dampft ohne Zusatz von Pottasche auf dem Wasserbad zur Trockne. Es wird auch hier Wasser zugesetzt, um das Verdampfen des Alkohols ruhiger zu gestalten. Die zurückbleibenden Salze sollen nur einen dünneren Beschlag auf dem Boden der Schale bilden.

Größere Mengen von Salzen werden hier stets bei der Extraktion chloridreicher Salzgemische beobachtet, wie auch bei solchen, die freie Kalilauge enthalten (diese wird am besten durch Überleiten von Kohlensäure in Karbonat verwandelt). In solchen Fällen müssen noch einmal ein paar Tropfen Pottaschelösung zugesetzt und die Extraktion nach dem Eindampfen und Glühen wiederholt werden.

d) Die zweite Veraschung in der Platin-Goldschale. Man erhitzt nun die Schale in einer starken, nichtleuchtenden Bunsenflamme. Bei diesem letzten „Glühen“ treten am

leichtesten Verluste ein. Man muß darauf achten, daß die Schale stets nur ganz kurze Zeit in die Flamme kommt. Die Salze dürfen keinesfalls zum Schmelzen kommen.

Es kommt manchmal vor, daß beträchtliche Mengen organischer Substanz sich allen vorhergehenden Verbrennungen entziehen und erst bei der letzten Veraschung unter Bildung von Kohle und brauner Zersetzungsprodukte zerstört werden. War dies der Fall, so wiederholt man das Glühen mit Pottasche, extrahiert wieder und glüht dann noch ein letztes Mal.

3. Der Analysengang bei Gegenwart großer Mengen von Kalksalzen.

Bei der Untersuchung von sehr kalkreichen Substanzen haben wir die Erfahrung gemacht, daß das v. FELLEBERG'sche Verfahren auch in der jetzt von uns geschilderten Form in manchen Fällen nicht zum Ziele führt. Wir beobachteten gelegentlich Fehlresultate, wo nur ein Fünftel bis ein Sechstel des Gesamtjods bei Einhaltung des üblichen Analysenganges zur Bestimmung gelangt.

Es zeigte sich, daß in diesen Fällen das Jod nach der Veraschung in alkoholunlöslicher Form vorlag und sich dadurch der Bestimmung entzog. In solchen Fällen kommt man zum Ziel, wenn man den Glührückstand in Salzsäure löst und nachher die Flüssigkeit wieder alkalisch macht, ehe man mit Alkohol extrahiert.

Bequemer und sicherer kommt man zum Ziel, wenn man nach der gewöhnlichen Verbrennung in der Eisenschale Wasser zusetzt, auf dem Wasserbad erwärmt und das ungelöste, zurückbleibende Kalziumkarbonat heiß filtriert und mit heißem Wasser gründlich auswäscht. Man kann dann noch den Kalk mit Säure vom Filter lösen, wieder ausfällen und abfiltrieren.

Da aber bei gründlichem Auswaschen mit heißem Wasser nur ein unbedeutender Teil des Jods auf dem Filter zurückgehalten wird, kann man sich damit begnügen, den Filtrerrückstand nochmals unter Zusatz von etwas Pottasche zu verbrennen. Das Filtrat wird zur Trockne verdampft, nochmals geglüht, mit Alkohol extrahiert und die alkoholischen Auszüge alle vereinigt.

Das oben erwähnte Verhalten sowie der Umstand, daß bei anderen untersuchten kalkreichen Proben das gewöhnliche v. FELLEBERG'sche Verfahren Werte lieferte, die nur etwa 15% zu niedrig waren, legt die Vermutung nahe, daß das Jod in manchen

Fällen anders gebunden ist. Es ist wahrscheinlich, daß es als schwerlösliches Kalziumjodat vorliegt, welches entweder von vornherein vorhanden war oder sich während der Verbrennung unter der Einwirkung von Oxydationsmitteln gebildet hatte. Diese Annahme wird durch die Beobachtung von KARL CLOSS¹³⁾ gestützt, daß diejenigen Proben, bei denen sich am meisten Jod der Bestimmung entzog, vor der Verbrennung beim Ansäuern aus Kaliumjodid beträchtliche Mengen Jod frei machten, während die Proben, die auch nach dem alten Verfahren untersucht, annähernd gleich hohe Werte gaben, nur schwache oder keine oxydierenden Eigenschaften besaßen.

Da die Trinkwässer der Kropfgegenden, die sehr häufig der Gegenstand von Joduntersuchungen waren, meistens sehr hart (kalkreich) sind, so dürften diese Beobachtungen nicht ohne praktisches Interesse sein. v. FELLEBERG beschreibt die Jodbestimmung in Wässern wie folgt¹⁴⁾:

„Man bringt das Wasser in einen geräumigen Kolben aus Jenaer Glas, versetzt mit etwas Phenolphthalein und soviel Pottaschelösung, daß eine stark rote Farbe auftritt, und dampft auf ein kleines Volumen ein. Wenn sich bei Trinkwasser oder Flußwasser Kalk abscheidet, so filtriert man nach einiger Zeit.“ Das Filtrat wird weiter untersucht, der Filterrückstand dagegen vernachlässigt.

Es wurde diese Methode bereits von CHATIN¹⁵⁾ verwendet, der auch angibt, daß die harten, viel Kalk und Magnesia enthaltenden Wässer ihr Jod schnell verlieren.

Es ist schwer verständlich, warum kalkreiche Lösungen besonders leicht ihr Jod verlieren sollen, da sie doch alkalisch sind. Ist es nicht nach unseren oben mitgeteilten Ergebnissen eher anzunehmen, daß das Jod den Analytikern in solchen Fällen bei der Analyse entgangen ist?

Nach verschiedenen Forschern soll auch ein Teil des Jods im Meerwasser als Kalziumjodat vorliegen (SONSTADT¹⁶⁾).

Auch für die Jodmangeltheorie des Kropfes dürften diese Beobachtungen von Wichtigkeit sein. Der Jodmangel einer Gegend wird nämlich von den meisten Forschern durch Wasseranalysen festgestellt.

¹³⁾ KARL CLOSS, Diss. München 1929. Wird demnächst veröffentlicht.

¹⁴⁾ TH. V. FELLEBERG, *Ergebn. der Physiol.* 25, 196 (1927).

¹⁵⁾ A. CHATIN, cit. nach v. FELLEBERG l. c. Seite 183.

¹⁶⁾ E. SONSTADT, *Chem. News*, 25, 196, 231, 241 (1872).