

tionsverfahren benutzt man eine Natriumthiosulfatlösung, die 1 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ im Liter enthält.

Die Methode von SCHULEK und STASIAK ist ungeeignet zur Kontrolle kolorimetrischer Resultate. Es ist nämlich weder in alkalischer, noch in neutraler, noch in saurer Lösung möglich, Nitrit mit Brom zu Nitrat zu oxydieren. Da aber Nitrit die Titration stört, muß es entweder durch Erhitzen mit Traubenzucker (SCHULEK und STASIAK) oder durch Umsetzung mit Natriumazid in saurer Lösung (J. F. REITH²⁴) entfernt werden. REITH verwendet ebenfalls Brom zur Titration, weil er behauptet, daß bei Anwendung von Chlor eventuell Bromat gebildet werden kann und dadurch Jod vorgetäuscht wird. Das Brom wird in saurer Lösung zugesetzt und auf dem Wasserbad weggekocht (PH etwa 1,6). Die Abweichungen sind bei der REITH'schen Methode bei Werten von 0,5 bis 1,5 γ Jod höchstens 5%, bei Werten von 1,5 bis 10 γ höchstens 2%.

III. Über die quantitative Bestimmung von anorganisch und organisch gebundenem Jod nebeneinander.

Es ist eine große Reihe von Versuchen angestellt worden, um über die Art der Bindung des Jods in den verschiedensten tierischen, pflanzlichen und auch mineralischen Produkten Aufschluß zu erhalten. Diese Aufgabe ist aber als eine der schwierigsten der analytischen Chemie zu bezeichnen, und die bisherigen Arbeiten auf diesem Gebiete sind nur als Vorversuche zu bezeichnen.

Bei einer Trennung von verschiedenen Jodverbindungen kann man entweder von der verschiedenen Löslichkeit oder aber von der verschiedenen Reaktionsfähigkeit der Verbindungen mit bestimmten Reagenzien Gebrauch machen.

So versuchte v. FELLEBERG²⁵) über die Art der Bindung des Jods in den Böden dadurch einen Aufschluß zu erhalten, daß er das Jod in salzsäurelösliches und salzsäureunlösliches aufteilte. Nach diesem Verfahren arbeitete auch BLEYER²⁶). J. BECK²⁷)

²⁴) J. F. REITH, Rec. Trav. chim. Pays-Bas, 48, 386 (1929).

²⁵) V. FELLEBERG, Biochem. Zeitschr. 152, 153 (1924).

²⁶) B. BLEYER, Biochem. Zeitschr. 170, 265 (1926).

²⁷) W. GAUS und R. GRIESSBACH, „Jodfrage und Landwirtschaft“, S. 95 (Sonderdruck aus: Zeitschr. Pflanzenernähr. Düngung, Abt. A. 13, Heft 6 (1929).

teilte das Jod in den Böden in organisiertes und nichtorganisiertes ein.

Bei tierischen und pflanzlichen Produkten ist es von ganz besonderem Interesse, über die Art der Bindung des Jods Klarheit zu schaffen. Hier hat man versucht, eine Trennung der verschiedenen wasserlöslichen Jodverbindungen nach folgenden Methoden zu erreichen: 1. Durch die Unterschiede in der Löslichkeit der verschiedenen Jodverbindungen in organischen Lösungsmitteln (BLUM und GRÜTZNER, v. FELLEBERG, LUNDE und CLOSS), 2. durch Ausfällung des anorganischen Jods mit Silbernitrat (ESCHLE, OSWALD u. a.), 3. durch Entfernung des anorganischen Jods, nachdem man es mit einem Oxydationsmittel in freies Jod übergeführt hat (OKUDA und ETO, v. FELLEBERG u. a.), und 4. durch Ausfällung des organisch gebundenen Jods (OKUDA und ETO, HUNDESHAGEN, KENDALL, LUNDE und CLOSS u. a.).

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen haben uns zu der untenstehenden Einteilung der in tierischen und pflanzlichen Organismen natürlich vorkommenden Jodverbindungen geführt.

Wir haben zuerst die leichtlöslichen, das heißt solche, die sich aus dem zu untersuchenden Material mit Wasser, Alkohol oder Aceton ausziehen lassen. Solche Verbindungen sind vor allem die im Zellsaft gelösten. Zu diesen leichtlöslichen Jodverbindungen gehören die wasserlöslichen anorganischen Jodverbindungen (z. B. lösliche Jodide und Alkalijodate) und wasserlösliche organische Jodverbindungen (jodhaltige Extraktivstoffe).

Von den wasserunlöslichen Jodverbindungen lassen sich einige mit fettlösenden, organischen Flüssigkeiten ausziehen, das sind Jodfette usw. Ferner gehören zu den wasserunlöslichen schwerlösliche anorganische Jodverbindungen (z. B. Erdalkalijodat) und die in der Gerüstsubstanz der Organismen fest gebundenen organischen Jodverbindungen.

Die Aufteilung des Jods in diese verschiedenen Fraktionen gestaltet sich nun wie folgt.

Extraktion mit Wasser. Die Substanz wird zuerst mit Wasser erschöpfend extrahiert. Diese Extraktion muß nach Möglichkeit bei gewöhnlicher Temperatur erfolgen, um eine Veränderung leichtzersetzlicher organischer Verbindungen zu verhindern. Wir gehen bei diesen Versuchen so vor, daß die Substanz zuerst nach Möglichkeit zerkleinert wird, worauf sie wiederholt mit frischem Wasser auf der Schüttelmaschine geschüttelt wird. Man

kann auch den feuchten Brei an einem kühlen Ort einfach stehenlassen und das Wasser von Zeit zu Zeit erneuern. Da diese letzteren Extraktionen meistens sehr viel Zeit in Anspruch nehmen, es vergehen oft mehrere Tage, bis die Extraktion vollständig ist, so muß man den Brei durch Übersichten mit geringen Mengen Toluol vor Fäulnis schützen. Die wässerigen Extrakte werden stets mit Toluol überschichtet.

Die Abtrennung der wässerigen Extrakte vom Rückstand bietet manchmal große Schwierigkeiten und wird im allgemeinen erst durch Zentrifugieren möglich. Die weitere Aufarbeitung des wässerigen Extraktes gestaltet sich verschieden, je nachdem welchen Zweck man bei der Untersuchung verfolgt.

Abtrennung des Fettjods. Man kann aus der wässerigen Lösung zuerst die Fette durch Ausschütteln mit Chloroform (nach v. FELLEBERG²⁸) oder, wie wir gefunden haben, besser mit Äther entfernen. Die Lösung wird zu diesem Zwecke schwach sauer gemacht. Ist die wässerige Lösung zu verdünnt (das heißt zu jodarm), dann muß sie vor dem Ausschütteln mit Äther eingengt werden. Das Einengen wird am besten im Vakuum vorgenommen (eventuell unter Zusatz von wenig Kaliumkarbonat). Die ätherische Lösung enthält elementares Jod, entweder von vornherein vorhandenes, oder solches das beim Ansäuern in Freiheit gesetzt wurde. Ferner enthält die Ätherlösung dasjenige Jod, das an Fette, bzw. an Lipoide gebunden ist. Diese Fraktion wird oft als „Lipoidjod“ bezeichnet (VEIL und STURM²⁹), LUNDE und CLOSS³⁰). Über die Art der Bindung des Jods in dieser Fraktion wissen wir nichts ganz Bestimmtes; es ist wahrscheinlich, daß das meiste Jod in dieser Fraktion tatsächlich an Fette gebunden ist.

Bestimmung des anorganisch gebundenen Jods durch Oxydation. Im allgemeinen versucht man nun in der wässerigen Lösung nach dem Abtrennen des Äthers das anorganisch gebundene Jod (Jodid) dadurch zu bestimmen, daß man es mit einem Oxydationsmittel zu freiem Jod oxydiert und das ausgeschiedene Jod mit einem organischen Lösungsmittel ausschüttelt und quantitativ bestimmt. Von dem Oxydationsmittel muß man verlangen, 1. daß es Jodide quantitativ in Jod über-

²⁸) TH. V. FELLEBERG, *Ergebn. der Physiol.*, 25, 205 (1926).

²⁹) W. H. VEIL und A. STURM, *Dtsch. Arch. klin. Med.*, 147, 166 (1925).

³⁰) G. LUNDE und K. CLOSS, *Norsk. Mag. Laegev.*, 1928, 500.

führt, 2. daß die Oxydation nicht weiter als zur Stufe des elementaren Jods geht, und 3. daß es sich mit anderen Jodverbindungen als Jodiden nicht umsetzt.

OKUDA und ETO³¹⁾ bestimmten das anorganisch gebundene Jod in wässerigen Extrakten aus Algen in der Weise, daß sie die schwefelsaure Lösung mit Nitrit und Chloroform behandelten, und das mit Chloroform ausgeschüttelte Jod nach FRESSENIUS³²⁾ bestimmten. v. FELLEBERG (l. c., S. 205) setzte ebenfalls das Jod der Jodide mit Nitrit in Freiheit und schüttelte das ausgeschiedene Jod mit Chloroform aus. Das in der wässerigen Lösung zurückbleibende Jod faßt er als organisch gebunden auf und bezeichnet es als „organischer Rest“. Nach diesem Verfahren arbeiteten auch VEIL und STURM (l. c.), LUNDE und CLOSS³³⁾, SCHARRER und SCHWAIBOLD³⁴⁾ u. a. Wir haben aber bereits früher darauf hingewiesen, daß eine Trennung nach diesem Verfahren nicht einwandfrei ist³⁵⁾. P. A. MEERBURG³⁶⁾ hat auch kürzlich diese Trennungsmethode kritisiert. Er hat Versuche angestellt, wo er eine Trennung des organischen und anorganischen Jods in Wässern nach v. FELLEBERG ausführte, und zwar unter Zusatz von einer bekannten Menge Jodid. Dabei stellte sich heraus, daß er zwar die Gesamtmenge des im Wasser enthaltenen und des zugesetzten Jods bei der Analyse wiederfindet, das zugesetzte Jodid war aber zu einem großen Teil „organisch“ geworden. MEERBURG erklärte dies in der Weise, daß das durch Nitrit ausgeschiedene Jod in statu nascendi auf ungesättigte organische Verbindungen, die im Wasser enthalten seien, einwirke und so in der wässerigen Lösung als organisch gebundenes Jod zurückbleibe. Neuerdings scheint v. FELLEBERG sich dieser Auffassung angeschlossen zu haben³⁷⁾. Er schreibt aber: „Immerhin gibt es Fälle, wo dennoch das v. FELLEBERG'sche Trennungsv erfahren nicht wertlos ist. So konnte bei gewissen Meeresalgen und auch in manchen Kropfmitteln festgestellt werden, daß die Hauptsache des Jods anorga-

³¹⁾ Y. OKUDA und T. ETO, Journ. Coll. Agric. Tokyo, 5, 341 (1916).

³²⁾ F. P. TREADWELL, Analytische Chemie, II., 2. Auflage (1919), S. 559.

³³⁾ G. LUNDE und K. CLOSS, Tidsskr. Kjem. Bergv., 8, 33 (1928).

³⁴⁾ SCHARRER und SCHWAIBOLD, Biochem. Zeitschr. 207, 332 (1929).

³⁵⁾ G. LUNDE, H. CLOSS, H. HAALAND, S. O. MADSEN, Aarsberetn. vedk. Norges Fiskerier, 1928, Nr. 4.

³⁶⁾ P. A. MEERBURG, Zeitschr. physikal. Chem., 130, 105 (1927).

³⁷⁾ TH. v. FELLEBERG, Mikrochemie, 7 (N. F. 1), 261—62 (1929).

nisch gebunden war. Obgleich die Werte vermutlich etwas zu niedrig waren, gaben sie doch den gewünschten Einblick“.

Wir können uns der Auffassung von MEERBURG durchaus nicht anschließen. Es erschien uns sehr unwahrscheinlich, daß das stundenlang eingekochte Wasser noch so reaktionsfähige Verbindungen enthalten sollte, die das elementar ausgeschiedene Jod aufzunehmen vermöchten. Es ist auch von verschiedener Seite behauptet worden, daß die Oxydation des Jodids mit Nitrit, wie sie bei dieser Trennung vorgenommen wird, zur Bildung von Jodat führen kann. Das Jodat würde in der wässerigen Lösung zurückbleiben und so als „organisches“ Jod bestimmt werden. Es ist aber dies überhaupt nicht bewiesen worden, und Versuche von KARL CLOSS³⁸⁾ haben gelehrt, daß die Fehlergebnisse, die bei dieser Methode so oft eintreffen, auf eine ganz andere Ursache zurückzuführen sind. Der Grund für die Fehlergebnisse ist in den in Wässern und sonst zur Untersuchung kommenden wässerigen Flüssigkeiten stets vorhandenen Chloriden zu suchen. Diese bewirken Bildung von Chlorjod-Chlorwasserstoffsäure $H(JCl_2)$, die beim Ausschütteln mit Chloroform größtenteils in der wässerigen Lösung zurückbleibt. Die Menge der sich bildenden Chlorjod-Chlorwasserstoffsäure hängt von der Säurekonzentration sowie von der Nitritkonzentration ab, und zwar steigt die Menge mit der Säurekonzentration und mit der Nitritkonzentration, letzteres aber nur bis zu einem gewissen Grenzwert. Diese Reaktion ist mit der Darstellung von Jodmonochlorid JCl durch Auflösen von Jod in Königswasser nach BUNSEN³⁹⁾ direkt vergleichbar. Sie geht nicht weiter als zur Bildung von JCl . Die gebildete Chlorjod-Chlorwasserstoffsäure ist in Äther leichter löslich als in Wasser, kann daher mit Äther aus der wässerigen Lösung entfernt werden. Bei Anwendung von Äther an Stelle von Chloroform zur Ausschüttelung des in Freiheit gesetzten Jods wird also auch das gebildete Chlorjod mit aus der Lösung entfernt. Bei Anwendung von Äther fällt also diese Fehlerquelle fort.

Eine andere Fehlerquelle bei dem v. FELLEBERG'schen Trennungsverfahren, worauf er übrigens auch selbst hinweist, ist die, daß das Nitrit aus verschiedenen organischen Jodverbindungen

³⁸⁾ KARL CLOSS, Diss. München 1929, wird demnächst veröffentlicht.

³⁹⁾ R. BUNSEN, Liebigs Ann., 84, 1 (1852).

Jod in Freiheit setzen kann. Dieses organisch gebundene Jod würde dann als „anorganisches“ Jod zur Bestimmung gelangen. Bei der Verwendung von Wasserstoffsuperoxyd als Oxydationsmittel fällt diese Fehlerquelle größtenteils fort. Bei der Anwendung von Wasserstoffsuperoxyd ist auch die Bildung von Chlorjod viel langsamer als bei Anwendung von Nitrit.

Ausfällung des anorganischen Jods. Wie bereits erwähnt, kann man in der durch Extraktion des Untersuchungsmaterials erhaltenen wässrigen Lösung eine Abtrennung des anorganisch gebundenen Jods durch Ausfällen erreichen.

Als Fällungsmittel kommen im wesentlichen in Betracht: Silbernitrat, Palladiumchlorür, Kupfersulfat und ammoniakalisches Kupferchlorür. Wir haben gefunden, daß Kupfersulfat mit kleinen Jodmengen nicht quantitativ reagiert.

Silbernitrat wurde von ESCHLE⁴⁰⁾ und auch von OSWALD⁴¹⁾ und anderen verwendet. Silbernitrat ist bei großen Mengen, wo man im Niederschlag eine Trennung der Halogene vornehmen kann, gut anwendbar. Bei kleinen Jodmengen beschränkt man sich im allgemeinen auf die Bestimmung des nicht gefällten Jods im Filtrat, da der Aufschluß des Niederschlages und die Bestimmung seines Jodgehaltes mit Schwierigkeiten verbunden ist.

Ein Nachteil des Verfahrens ist, daß wir keinerlei Garantie dafür haben, daß nur anorganisches Jod ausgefällt wird, da einerseits viele organische Verbindungen schwerlösliche Silbersalze liefern, andererseits die organischen Jodverbindungen zum Teil mit Silbernitrat unter Bildung von Silberjodid reagieren können.

Palladiumchlorür fällt in schwach salzsaurer Lösung von anorganischen Verbindungen außer Jodiden nur Cyanide. Reaktionen mit organischen Verbindungen, wie sie beim Silbernitrat eintreten, sind hier nicht in gleichem Maße bekannt. Außerdem kann das Jod sowohl im Niederschlag als auch im Filtrat leicht nachgewiesen werden, nachdem man das Palladium entfernt hat. Die Ausfällung des Jodids mit Palladium wird nach der allgemeinen Vorschrift vorgenommen⁴²⁾: „Man säuert die jodidhaltige

⁴⁰⁾ ESCHLE, Zeitschr. physiol. Chem., 23, 30 (1897).

⁴¹⁾ A. OSWALD, Zeitschr. physiol. Chem., 75, 353 (1911).

⁴²⁾ F. P. TREADWELL, Analytische Chemie, II, 8. Aufl., 1919, S. 283.

Lösung schwach mit Salzsäure an, fügt, solange eine Fällung entsteht, Palladiumchlorürlösung hinzu, läßt ein bis zwei Tage an einem warmen Orte stehen und filtriert den braunschwarzen Niederschlag von Palladiumjodür.“ Die Palladiumfällung wird in möglichst wenig Ammoniak gelöst und Schwefelwasserstoff in die Lösung eingeleitet. Beim Neutralisieren mit Salzsäure fällt Palladiumsulfid aus und wird durch Filtration entfernt. Das Filtrat wird durch Einleiten von Kohlensäure und kurzes Erwärmen vom Schwefelwasserstoff befreit. Dann macht man alkalisch und bestimmt das Jod wie üblich.

In das Filtrat von der Palladiumfällung wird Schwefelwasserstoff eingeleitet und das ausfallende Palladiumsulfid abfiltriert. Die weitere Aufarbeitung geschieht wie oben.

Ausfällung der Eiweißkörper. Man kann auch aus der wässrigen Lösung vor oder nach der Abtrennung des „Lipoidjods“ und des anorganischen Jods solche Jodverbindungen entfernen, die sich durch Zusatz von organischen Lösungsmitteln ausfällen lassen. Hier kommen vor allem mit Alkohol oder Aceton koagulierbare, jodhaltige Eiweißkörper in Betracht.

Hierauf beruht die Trennung der Jodverbindungen im Blut nach v. FELLEBERG⁴³). Diese Methode ist von uns weiter ausgebaut worden⁴⁴). Wir verfahren wie folgt:

5 bis 10 ccm Blut werden mit einer vorher mit Citratlösung ausgespülten LUER'schen Spritze der Armvene entnommen. Das Blut wird sofort in einem etwa die vierfache Menge 96%igen jodfreien Alkohol enthaltenden Meßzylinder eingespritzt und gut durchgeschüttelt. Das fein verteilte Koagulat wird jetzt in eine Soxhlethülse eingefüllt und mit dem Alkohol etwa vier Stunden auf dem Wasserbad extrahiert. Das gesamte anorganisch gebundene Jod ist jetzt im Alkohol gelöst, während die in Alkohol unlöslichen Verbindungen, insbesondere die Eiweißkörper, in der Hülse zurückbleiben. Das Jod kann jetzt in beiden Fraktionen getrennt bestimmt werden.

BLUM und GRÜTZNER⁴⁵) führen die Trennung mit Aceton aus. SCHARRER und SCHWAIBOLD (l.c.) fällen das an Eiweiß gebun-

⁴³) TH. v. FELLEBERG, *Ergebn. der Physiol.*, 25, 207 (1926).

⁴⁴) G. LUNDE, K. CLOSS und O. CHR. PEDERSEN, *Biochem. Zeitschr.*, 206, 261 (1929).

⁴⁵) BLUM und GRÜTZNER, *Zeitschr. physiol. Chem.*, 85, 429 (1913), 91, 392, 450 (1914).

dene Jod mit Alkohol. OKUDA und ETO (l. c.) führen im wässrigen Extrakt von Algen Fällungen mit basischem Bleiacetat und auch mit STUTZER's Reagens aus.

Andere eiweißfällende Reagenzien können auch verwendet werden. Über diesbezügliche Versuche werden G. LUNDE und K. WÜLFERT demnächst berichten. Man vergleiche auch SCHARRER und SCHWAIBOLD (l. c.).

Andere Extraktionsmittel als Wasser. Häufig verwenden wir statt Wasser Alkohol oder Aceton für die erste Extraktion der organischen Substanz⁴⁶⁾. Die Extraktion mit diesen Lösungsmitteln kann so vorgenommen werden, wie oben bei der wässrigen Extraktion beschrieben. Besser extrahiert man im Soxhletapparat. Die Alkohol- und Acetonlösungen enthalten anorganisch gebundenes Jod sowie eine Reihe organischer Jodverbindungen. Man kann das Lösungsmittel unter Zusatz von Wasser und etwas Kaliumkarbonat abdestillieren (besser im Vakuum) und die wasserlöslichen Jodverbindungen wie oben weiter trennen.

Der Rückstand nach der Alkohol- oder Aceton-Extraktion wird mit verdünnter Salzsäure am Rückfluß erwärmt, wobei einerseits schwerlösliche anorganische Jodverbindungen (Erdalkalijodate usw.) in Lösung gehen, andererseits aus den Kohlehydratkomplexen der Zellwände durch Hydrolyse Jodverbindungen herausgelöst werden („Kohlehydratjod“).

Zusammenfassung des Teiles III.

Die Substanz wird mit Wasser (Alkohol oder Aceton) erschöpfend extrahiert.

Fettjod wird aus saurer Lösung mit Äther entfernt.

Anorganisches Jod wird mit Nitrit oder Wasserstoff-superoxyd in sehr schwach saurer Lösung (essigsaurer) in Freiheit gesetzt und mit Äther ausgeschüttelt.

Anorganisches Jod kann bei etwas größeren Mengen auch mit Palladiumchlorür in schwach saurer Lösung ausgefällt werden.

Eiweißjod wird mit eiweißfällenden Reagenzien ausgefällt.

⁴⁶⁾ G. LUNDE, K. CLOSS, H. HAALAND, S. O. MADSEN, l. c., S. 35.