

# Studien zur Physiologie der Schilddrüse.

## I. Mitteilung.

### Methoden der Jodbestimmungen in organischen Substanzen.

Von

F. Blum und R. Grützner.

(Aus dem biologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. April 1913.)

Betrachten wir die zahlreichen angegebenen Methoden darauf hin, ob sie die Aufgabe lösen können, in größeren Quantitäten Blutes und in ganzen Organen kleinste Mengen Jod (es handelt sich um Zehntel-Milligramme) einwandfrei nachzuweisen, so kommen von vornherein eine große Anzahl in Wegfall: Zunächst die sonst so verlässlichen Methoden der Halogensilberbestimmung auf gravimetrischem wie auf titrimetrischem Wege. Das regelmäßig in dem zu verarbeitenden Materiale in viel beträchtlicherer Menge vorhandene Chlor macht eine Bestimmung von Spuren Jod auf diese Weise unmöglich.

Ein Durchsprechen der Methoden, die in der Hauptsache auf den Nachweis des Jods im Urin zugeschnitten sind, erübrigt sich; denn sie alle können den für unsere Zwecke zu stellenden Forderungen nicht genügen, die wir folgendermaßen formulieren müssen:

1. Der Nachweis des Jods muß sicher und eindeutig sein.
2. Der Nachweis des Jods muß sehr empfindlich sein: Kleinste Jodmengen in größten Mengen organischer Substanz.
3. Ein richtiges Endresultat darf nicht durch einen Ausgleich mehrerer Fehler erzielt sein.

#### 1. Veraschung.

Zur Bestimmung des Jods in organischer Bindung (die Abtrennung des anorganischen Jods wird in der folgenden Mitteilung besprochen) ist die Überführung in den ionisierten Zustand, in Jodid oder Jodat durchaus notwendig. Von den meisten Autoren wird die Baumannsche Methode der Soda-Salpeterschmelze in ihrer ursprünglichen Form oder in einer der zahlreichen Modifikationen verwendet. Sie erfüllt, richtig durchgeführt, ihren Zweck vollständig, ist aber, wie wir zeigen

werden, eine ungeeignete Vorbereitung für die weitere Jodbestimmung. Einfacher ist die von anderer Seite vorgeschlagene Calciniierung bei alkalischer Reaktion (Bourcet,<sup>1)</sup> Bernier und Péron<sup>2)</sup>). Ob aber diese Zerlegung der Materie (Eintrocknen mit Soda, Verkohlen und Ausziehen mit Wasser) eine quantitative Überführung des Jods in den ionisierten Zustand und damit eine einwandfreie Bestimmung ermöglicht, erschien doch mindestens zweifelhaft und mußte nachgeprüft werden. Unsere Versuche ergaben, daß die Überführung tatsächlich nur eine unvollkommene ist: Ein Jodeiweißkörper (0,1961 g), dessen Jodgehalt zu 12,0% Jod bestimmt war,<sup>3)</sup> wurde mit 25 ccm Blut zusammen verkohlt und gab nach Verkohlen und Extraktion nur 15,3 mg Jod statt 23,6 d. i. nur 65% des zugesetzten organisch gebundenen Jods. Der Rest war in der Kohle verblieben. Dieser Ausfall wurde durch folgenden Versuch bestätigt und ergänzt: Ein anderes Jodeiweiß (0,1762 g), für sich allein verarbeitet, lieferte bei vorschriftsmäßig geleiteter Verkohlung und Ausziehen mit Wasser (Bernier-Péron) nur 15,7 mg Jod (8,9% Jod), während der ausgewaschene Kohlenrückstand nachträglich vollständig verascht (nach unserer später zu beschreibenden Methode) nochmals 1,0 mg = 0,56% Jod abgab. Daraus geht mit Deutlichkeit hervor, daß eine totale Überführung des Jods in den ionisierten Zustand und damit in die Lösung bei diesem Verfahren nicht mit Sicherheit zu erwarten ist. Naturgemäß wird dieser Fehler bei Verwendung größerer Substanzmengen und bei schwer zersetzlichen organischen Jodverbindungen besonders ins Gewicht fallen. Diese Beobachtungen, die auch mit denen von anderer Seite<sup>4)</sup> sich decken, führten uns zu der Erkenntnis, daß eine sichere Gewähr für die quantitative Überführung des organisch gebundenen Jods

<sup>1)</sup> P. Bourcet, Comptes rendus, Bd. 128, S. 1120 (1899).

<sup>2)</sup> R. Bernier und G. Péron, Dosage précis de petites quantités d'iodures etc., Journal de Pharmacie et de Chimie (1911), 7. Reihe, Bd. 3, S. 242 und ebenda (1911), 7. Reihe, Bd. 4, S. 151 (Verfahren für Blut etc. in der zweiten Arbeit).

<sup>3)</sup> Mittel einer Bestimmung nach Carius und einer solchen nach Hunter.

<sup>4)</sup> Riggs, Journ. of the Amer. Chem. Soc., Bd. 32, S. 692 (1910).

in unorganische Form allein durch eine vollständige Veraschung der organischen Substanz gegeben ist. Eine solche gewährleistet die oben erwähnte Sodasalpeterschmelze, die bei kleinen Mengen organischer Substanz (Urin, einzelne Schilddrüsen usw.) sehr handlich ist. Die anzuwendende Menge Soda und Salpeter variiert stark in den verschiedenen Vorschriften. Die Veraschung geht im allgemeinen am ruhigsten und daher im Hinblick auf Jodverluste am sichersten vor sich bei Anwendung ziemlich beträchtlicher Alkalicarbonatmengen, die eine glatte Schmelze ermöglichen. Vor die Aufgabe gestellt, diese Veraschung mit beträchtlichen Mengen Blutes durchzuführen, ergab sich aber, daß die Auffindung von kleinsten Jodmengen in einer Schmelzlösung, die derartige Mengen von Alkalisalzen enthält, praktisch undurchführbar ist, sodaß es sich als erforderlich erwies, nach einem Veraschungsverfahren zu suchen, das die Quantität der beigemischten Salze viel geringer zu halten gestattet.

Das Nächstliegende wäre eine Verbrennung mit elementarem Sauerstoff gewesen. Die dahingehenden Versuche verliefen aber unbefriedigend, so daß wir diesen Weg verlassen mußten.

Von vornherein aussichtsvoller gestaltete sich die Verwendung der Superoxyde, von denen wir das Natrium- und das Baryumsuperoxyd in Vergleich zogen. Am geeignetsten für unsere Zwecke erwies sich das Baryumsuperoxyd, da einerseits die organische Substanz völlig zerstört würde, andererseits die zugesetzte Menge Baryt sich ohne Schwierigkeit aus der Lösung der Schmelze entfernen ließ. In der Tat haben wir die Verwendung des Baryumsuperoxyds mit Sodazusatz zu einem sehr brauchbaren Verfahren einer vollständigen Veraschung ohne Jodverlust ausarbeiten können (s. spezieller Teil) und ein wesentlicher Vorteil liegt eben darin, daß aller Baryt als  $\text{BaCO}_3$  bzw.  $\text{BaSO}_4$  wieder entfernbar ist, so daß auch bei Veraschung sehr großer Substanzmengen die Menge der neben dem zu bestimmenden Jodalkali gelösten Alkalisalze nicht ins Ungemessene steigt. Wir haben also anstatt der Entsalzung nach Bourcet durch mindestens 3malige Alkohol-

Fällung, der dann eine langwierige Wiedereinengung zu folgen hat, in unserem Verfahren nach völliger Zerstörung der organischen Substanz mit Baryumsuperoxyd ein einmaliges Einleiten von Kohlendioxyd und Ausziehen des Niederschlags (eventuell einmaliges Konzentrieren) eingesetzt und erhalten dadurch eine genügend salzarme Jodalkalilösung.<sup>1)</sup> Diese Vereinfachung hat uns gute Dienste geleistet.

## 2. Bestimmung des Jods.

Das durch den Schmelz- oder Calcinerungsprozeß in mineralische Form übergeführte Jod wird bisher auf sehr verschiedene Weise bestimmt. Die wichtigsten Verfahren mögen wenigstens im Prinzip kurz besprochen werden.

Am meisten wird das kolorimetrische Verfahren angewendet. Die ursprüngliche Baumannsche Methode ist mannigfach — nicht immer mit Glück — modifiziert worden. Wenn man mit einer extrem verdünnten, sauren Jodkalilösung auf Zusatz eines Tropfens Nitritlösung beim Durchschütteln mit Schwefelkohlenstoff oder Chloroform eine deutliche Rosafärbung auftreten sieht, so kann man allerdings auf die Empfindlichkeit des Verfahrens große Hoffnung setzen. Leider wird aber alles anders, wenn das Verfahren auf die komplizierteren Fälle, speziell bei Gegenwart von viel organischer Substanz, angewendet wird.

Ein erster Einwand, der die Mehrzahl der kolorimetrischen Jodbestimmungsmethoden trifft, ist der, daß auf den Einfluß des auszuschüttelnden Volumens gegenüber dem der Vergleichslösung nicht genügend geachtet wird. Wir haben diesem theoretisch zu erwartenden Unterschied zwischen der Extraktion eines größeren und der eines kleineren Volumens einige Versuche gewidmet.

Am unbedeutendsten ist die Differenz natürlich bei reinen KJ-Lösungen. Eine KJ-Lösung — 17,3 mg Jod entsprechend — wurde mit a) 100 ccm  $H_2O$  + 25 ccm 2 n- $H_2SO_4$   
 » b) 450 »  $H_2O$  + 50 » 2 n- $H_2SO_4$   
 » c) 1400 »  $H_2O$  + 50 » 2 n- $H_2SO_4$

<sup>1)</sup> Genaue Beschreibung siehe bei «Eigenes Verfahren», «Veraschung».

versetzt und nach Zusatz von verdünnter Nitritlösung mit Schwefelkohlenstoff mehrfach extrahiert, abgehoben und unter Bicarbonatlösung nach Fresenius titriert mit  $n/100$ -Thiosulfat. Es wurden gefunden anstatt 17,3 mg in a) 15,6, in b) 14,9 und in c) 14,1 mg Jod, also eine Abnahme mit Zunahme des Lösungsmittels. (NB. die letzte Lösung war häufiger extrahiert worden, als die ersten!) Bei einem ebenso angestellten Versuch wurden von 24,0 mg Jod bei einem Volumen von 500 ccm 22,3 mg, bei einem solchen von 1500 ccm 21,5 mg Jod gefunden. (Ein kleiner, unvermeidbarer und ziemlich konstanter Verlust, der für Bestimmungen kleinster Mengen das Verfahren ungenügend macht, tritt nach Fresenius immer auf.)

Wenn auch die Differenzen, die beim Ausschütteln verschieden großer Flüssigkeitsvolumina entstehen können, wie ersichtlich, nicht sehr groß sind, so müssen sie doch beachtet werden.

Wichtiger sind die Fehlerquellen, die mit der Beschaffenheit der auszuschüttelnden Lösung zusammenhängen. Zunächst konnten wir beobachten, daß aus einer weniger salzhaltigen Lösung mehr Jod extrahiert wurde, als aus einer konzentrierten (20,5 : 19,7 mg J). Außerdem vermehrt der Salzgehalt im Verein mit der Volumvermehrung die Verluste an Jod beträchtlich. Die Versuche wurden mit Lösungen von Sodasalpeterschmelzen von Blut, die mit Schwefelkohlenstoff ausgeschüttelt waren und keine Jodfärbung gegeben hatten, ausgeführt.

Zirka 1500 ccm nachträglich mit 5 ccm KJ-Lösung = 17,3 mg J versetzt, gaben beim 5 maligen Extrahieren nur 9 mg Jod.

500 ccm mit der gleichen Menge versetzt 12,0 mg Jod.

250 » » » » » » 14,6 » »

Die Jodverluste beim Ausschütteln wachsen also mit dem Volumen der auszuschüttelnden Lösung und deren Salzgehalt ganz beträchtlich. Daher muß man auch bei der kolorimetrischen Prüfung darauf achten, daß Volumen und Salzgehalt sowohl bei den zu extrahierenden Lösungen unter sich vergleichbar, wie auch andererseits mit den Standardlösungen

möglichst übereinstimmend gewählt werden. Dieser Grundsatz wird auch von einigen Forschern (Riggs, Anten<sup>1)</sup> u. a.) bei ihren Modifikationen des Verfahrens nach Möglichkeit beobachtet.

Nunmehr kommen wir aber zu den Einwänden, die wir gegen alle kolorimetrischen Verfahren der Jodbestimmung zu machen haben. Zunächst ist hier die Veränderung der erzielten Färbung in den Lösungsmitteln zu nennen. Für das Chloroform z. B. ist ein Verschwinden von sicher vorhanden gewesener Jodfärbung von dem einen von uns<sup>2)</sup> schon gezeigt worden: für Benzol ist es von Justus<sup>3)</sup> bemerkt und auch beim gereinigten Schwefelkohlenstoff jetzt von uns beobachtet worden. Ob das eine Wirkung des Jods auf das Lösungsmittel oder eine solche der überstehenden nitrithaltigen sauren Lösung auf das freie Halogen ist, vermögen wir nicht zu entscheiden. Jedenfalls kann die freie salpetrige Säure eine nicht unbedeutliche Ablassung der hellrosa Färbungen verdünntester Jodlösungen hervorrufen. Mit einem Überschuß an salpetriger Säure haben wir es erreicht, daß eine Probe, die 1 mg Jod in 3 ccm Schwefelkohlenstoff enthielt, hellere Farbe aufwies, als eine sonst ganz gleich behandelte Probe mit derselben Menge Jod, die nur wenig Nitrit zur sauren Lösung zugesetzt erhalten hatte. Andererseits ist es ja leicht zu beobachten, daß bei Mangel an Nitrit das Jod nicht quantitativ frei wird — ein Umstand, der sich oft ereignen wird, wenn die Schmelze noch reduzierende Substanzen enthält. Es ist nun tatsächlich unmöglich, anzugeben, welche Mengen Nitrit bei einer Sodasalpeterschmelze gebildet werden. Sie können bei nicht vollständiger Verbrennung der organischen Substanz gleich Null sein, wie wir beobachteten, und können in anderen Fällen beträchtliche Werte erreichen. Demnach wird man, wenn eine Schmelzlösung angesäuert und ausgeschüttelt wird, nie wissen, ob schon zu viel oder noch zu wenig Nitrit vorhanden ist. Andere Oxydationsmittel haben andere Nachteile. Wasserstoffsupper-

<sup>1)</sup> Anten, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. (1902), Bd. 48, S. 331.

<sup>2)</sup> Blum, «Zur Chemie und Physiologie der Jodsubstanz der Schilddrüse», Pflügers Archiv, Bd. 77, S. 97.

<sup>3)</sup> Siehe Zitat auf folgender Seite.

oxyd wirkt sehr langsam und scheint auch in Gegenwart von Salzsäure das Jod zu Jodsäure zu oxydieren.<sup>1)</sup> Auch Bichromat hat sich uns nicht bewährt und Permanganat oxydiert größtenteils bis zu Jodsäure.

Noch eine Fehlerquelle ist den meisten Methoden dieses Prinzips eigentümlich. Die Lösung der Schmelze enthält u. a. neben großen Mengen Soda das Nitrit und das Jodid. Wenn nun auch, wie meist vorgeschrieben ist, vorsichtig angesäuert wird, bleibt doch die Gefahr bestehen, daß von der entweichenden Kohlensäure das durch die salpetrige Säure gebildete Jod mitgerissen wird. Wir konnten, neben den entweichenden salpetrigen usw. Gasen, öfters durch Bläuung eines Stärkekleisterpapieres einen Jodverlust kenntlich machen. Diesem ließe sich nur durch vorherige Zerstörung des Nitrits und Nitrats gleich nach beendeter Schmelze, etwa durch das von uns (s. unten) verwendete Kohlenpulver vorbeugen. Neben all diesen Fehlerquellen macht sich aber noch eine weitere geltend — oft am allerunangenehmsten —, nämlich die außerordentliche Schwierigkeit, bei einigermaßen beträchtlichen Mengen organischer Substanz eine vollkommene Zerstörung derselben und eine farblose Lösung der Schmelze zu erhalten. Wir haben öfters beim Ausschütteln von Schmelzlösungen, die durch kleine Mengen unzerstörter organischer Substanzen gelb bis gelbbraun gefärbt erschienen, im Extrakt Färbungen wahrgenommen, deren Verwechslung mit den schwächeren Graden der Jodfärbung sehr wohl möglich war, und die zum Mindesten die kolorimetrische Bestimmung erheblich erschweren mußten. Es ist bei der Kolorimetrie deshalb der Identitätsnachweis des Jods z. B. durch Entfärbung mit Thiosulfat zu verlangen.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Anger, Comptes rendus, Bd. 152, S. 712.

<sup>2)</sup> Auf diese Fehlerquelle sind zweifellos die höchst irreführenden Resultate von Justus (Virchows Archiv, Bd. 176 [1904]), der in allen Organen Jod gefunden haben will, zurückzuführen, da er stets Lösungen ausschüttelte, die noch reichlich färbende organische Substanzen enthielten. Die Kritik, die Justus an den negativen Befunden von Bourcet übt, halten wir für ganz unberechtigt. Letzterer Autor hat zweifellos eine Reihe von Fehlerquellen ausgeschaltet, die J. nicht beachtet, und

Wir wollen auch nicht unerwähnt lassen, daß bei den leichtesten Rosafärbungen und deren Unterscheidung subjektive Momente eine ziemlich beträchtliche Rolle spielen.

Schließlich sei kurz noch auf eine Streitfrage eingegangen, die der Gegenstand einer Diskussion zwischen den beiden amerikanischen Forschern Riggs und Seidell<sup>1)</sup> gewesen ist und auch für die hier vorliegende Frage Wichtigkeit besitzt. Riggs hält die Bildung von Jodat in der Sodasalpeterschmelze für erwiesen; Seidell konnte sie nicht beobachten. Ersterer empfiehlt daher im Hinblick auf die spätere kolorimetrische Bestimmung des Jods, durch einen Reduktionsprozeß das Jodat in Jodid überzuführen, sodaß sich etwaiges Jodat nicht der kolorimetrischen Bestimmung entziehen kann. Wir haben nun in jodhaltigen Schmelzen, deren Lösung mit Schwefelsäure angesäuert und mit etwas Nitrit versetzt war, das freie Jod völlig extrahiert, d. h. solange, bis die Extrakte farblos blieben. Nach dem Zusatz eines kleinen Überschusses von schwefliger Säure und nochmaligem Oxydieren mit Nitrit bekamen wir wieder eine Jodfärbung im Extrakt. Dieselbe war allerdings meist nicht sehr beträchtlich. Dieser Befund spricht für das Vorhandensein von Jodaten in der Schmelzlösung. Daß diese jedoch so beträchtlich seien, wie Riggs annimmt (z. B. von 2 bis zu 30% des Gesamtjods in Ochsenhilddrüsen; in anderen Fällen noch viel mehr!), erscheint uns zweifelhaft und zwar aus dem Grunde, weil wir beim Verfahren dieses Autors den Zusatz von Nitrit vermissen. Wir konnten, wie oben bemerkt, Schmelzen erhalten (allerdings enthielten diese noch unverbrannte Kohle), die kein Nitrit enthielten (Ausbleiben der Jodkalistärkereaktion in schwefelsaurer Lösung). Es ist zu erwarten, daß eine solche Schmelzlösung kein Jod beim Ansäuern freierwerden läßt, nicht weil es als Jodsäure vorhanden wäre, sondern weil es am

---

wenn sein Verfahren auch umständlicher ist, so gewährt es doch ganz beträchtlich mehr Sicherheit als das Justussche. Unsere Stellung zum Bourcetschen Verfahren ergibt sich aus den Ausführungen im Text.

<sup>1)</sup> L. W. Riggs, Journ. of the Americ. Chem. Soc., Bd. 31, S. 710 (1909). — L. W. Riggs, Ebenda, Bd. 32, S. 692 (1910). — A. Seidell, Ebenda, Bd. 31, S. 1326 (1909).

Oxydationsmittel fehlen würde. Nach vollendetem Reduktionsprozeß setzt nun Riggs Nitrit zu und findet dann natürlich das Jod vor. Es könnte also das Vorliegen einer nicht vollständigen Schmelze an diesen Befunden schuld sein. Um die Frage nach dem Vorhandensein von Jodat in der Schmelze zu lösen, wird man überhaupt nicht eine saure Lösung untersuchen dürfen, da dann gleichzeitig die Reaktionen  $5 \text{HJ} + \text{HJO}_3 = 6 \text{J} + 3 \text{H}_2\text{O}$  (I) und  $\text{HJ} + \text{HNO}_2 = \text{J} + \text{H}_2\text{O} + \text{NO}$  (II) sich abspielen werden. Fehlen des Nitrits wird Zerstörung der Jodsäure entsprechend Gleichung I zur Folge haben; genügende Mengen von Nitrit aber werden den Jodwasserstoff oxydieren (II), ehe er in die Reaktion I eintreten kann. Sonach kommt es auch darauf an, ob das Nitrit vor oder nach dem Ansäuern zugesetzt wird.

Diesen verschiedenen Einflüssen schreiben wir es zu, daß die Mengen Jod, die erst nach der Reduktion auftraten, von Riggs so verschieden gefunden wurden.

Soviel läßt sich jedenfalls sagen, daß Jodat in den Sodasalpeterschmelzen oftmals entsteht. Vollständige Schmelzen, die immer Nitrit enthalten, geben beim Ansäuern vorwiegend die Reaktion II. Die gebildete Jodsäure entzieht sich also zum größten Teil dem kolorimetrischen Nachweis, wenn nicht die Riggssche Reduktion durchgeführt wird.

Wir möchten auch noch darauf hinweisen, daß die Empfindlichkeit der kolorimetrischen Jodbestimmung bekanntlich ein Optimum besitzt. Man muß also durch Verwendung aliquoter Teile der betreffenden Lösung eine für die Kolorimetrie möglichst günstige Jodmenge zum Ausschütteln bringen. Zugleich mit der erhaltenen Jodmenge multipliziert man nun auch die Fehler, was unter Umständen eine ziemliche Vermehrung bedeuten wird.

Wir kommen hiernach zu dem Schluß, daß die kolorimetrischen Verfahren alle keine genügende Sicherheit und Genauigkeit besitzen und sehr viele der vorgeschlagenen Arbeitsmethoden mit Fehlern prinzipieller Art behaftet sind.

Einen Übergang von den kolorimetrischen Verfahren zu den titrimetrischen bilden die Methoden, bei denen nach Fresenius' Vorgang das ausgeschüttelte Jod unter Bicarbonatlösung zur Titration gelangt. Diese Arbeitsweise ist von dem einen von

uns (Blum<sup>1)</sup>) für diese Zwecke vorgeschlagen worden und wird auch von anderer Seite empfohlen (Hanzlik).<sup>2)</sup>

Wie schon Blum gezeigt hat und unsere oben wiedergegebenen Bestimmungen bestätigen, hat man mit einem regelmäßigen Jodverlust zu rechnen.<sup>1)</sup> Die Titration erfolgt unter Bicarbonatlösung. Wenn man auch darauf achtet, daß das Bicarbonat nicht Soda enthält, die dem Schwefelkohlenstoff Jod entzieht — Einleiten von Kohlendioxyd in die Lösung! —, so verschwindet doch stets eine kleine Menge Jod durch Umsetzung mit dem Bicarbonat. Außerdem gibt das Durchschütteln des Gemischs sehr leicht Gelegenheit zu Verlusten, ist aber absolut notwendig, da nur ein gründliches Vermengen der zwei Schichten nach jeder Zugabe von Thiosulfat das richtige Erkennen des Endpunktes möglich macht. Zudem treffen die früher gegen das Ausschütteln vorgebrachten Einwände auch in diesem Falle zu.

Ferner ist zu beachten, daß selbst die verdünntesten Thiosulfatlösungen ( $n/200$ ) für sehr kleine Mengen Jod, genau genommen, noch zu konzentriert sind. Wenn 1 ccm Thiosulfatlösung 0,64 mg Jod entspricht, so muß bei Anwesenheit von Mengen von 0,5 mg Jod und weniger die Abschätzung des Thiosulfats mit ziemlich großen Fehlern verbunden sein. Bei größeren Jodmengen ist das Verfahren jedoch der Kolorimetrie überlegen.<sup>3)</sup>

Wegen der regelmäßigen und nicht unbeträchtlichen Verluste nach diesem Verfahren sind wir aber bald zu Versuchen mit anderen Methoden übergegangen.

Die bekannte Neumannsche Veraschung — Schwefelsäure- und Salpetersäuregemisch — verflüchtigt die Halogenwasserstoffsäuren. Chlor kann auf diesem Wege wohl bestimmt werden. Wenig Jod neben viel Chlor und neben Cyanwasserstoff ist aber unmöglich zu bestimmen. Außerdem ist die Bildung von Jodsäure nicht ausgeschlossen.

<sup>1)</sup> l. c. und «Neues und Altes zur Physiologie und Phathologie der Schilddrüse». Verhandlungen des 23. Kongresses f. innere Medizin, 1906, S. 199/200.

<sup>2)</sup> Hanzlik, Journ. of Biol. Chem., Vol. 7 (1909/10).

<sup>3)</sup> Hierin sowie in anderen Punkten, die er bei seiner Kritik der kolorimetrischen Verfahren hervorhebt, stimmen wir mit den Ausführungen Hunters (vgl. Zitat folgender Seite) durchaus überein.

Baubigny und Chavanne zerlegen die zu analysierende halogenhaltige Substanz durch eine Lösung, die neben konzentrierter Schwefelsäure und Bichromat das zur Festhaltung des Halogens nötige Silbernitrat enthält. Emde<sup>1)</sup> hat dies Verfahren für seine Zwecke nützlich befunden. Bei unseren Untersuchungen aber hat es sich nicht als verwertbar erwiesen.

Auch Versuche, das Jod in saurer Lösung frei zu machen und durch seine Flüchtigkeit von der Hauptmenge zu trennen, hatten kein ermutigendes Resultat. Das Verfahren von Winterstein-Herzfeld<sup>2)</sup> setzt eine besonders vollständige Zerstörung jodbindender organischer Substanzen voraus, was bei größeren Substanzmengen überhaupt sehr schwer zu erreichen ist; deshalb bietet dies Verfahren keinen Vorteil für unsere Zwecke.

#### Bestimmung des Jods als Jodsäure (titrimetrisch).

In neuester Zeit sind Jodbestimmungsverfahren ausgearbeitet worden, die das Jod in Jodsäure überführen und das in saurer Lösung durch die Wirkung der Jodsäure auf Jodwasserstoff freigemachte Jod in herkömmlicher Weise mit Thio-sulfat titrieren. Es sind die zwei Verfahren von Hunter und von Bernier-Péron. Bei beiden lassen sich 3 Stadien unterscheiden, 1. Veraschung; 2. Oxydation zu Jodsäure und gleichzeitige Entfernung anderer den Jodwasserstoff oxydierenden Stoffe; 3. Titration.

Hunter<sup>3)</sup> verwendet zur Veraschung auf 1 g trockener Schilddrüsensubstanz etwa 20 g eines Gemisches aus 138 g Pottasche (trocken), 106 g Soda (trocken) und 75 g Kalisalpeter. Für Schilddrüsen hat sich uns diese Art des Verbrennens gut bewährt. Bei Verwendung größerer Substanzmengen führt sie aber zu geradezu abenteuerlichen Mengen von Salz. Wenn z. B. 200 g Blut, deren Trockensubstanz etwa 40–50 g ausmacht, in diesem Verhältnis mit Veraschungsgemisch zu verarbeiten wären, so käme man auf etwa 800 g Alkalisalze in der Schmelze,

<sup>1)</sup> Chemikerzeitung, 1911, S. 450.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 63, Heft 1.

<sup>3)</sup> Andrew Hunter, The Determination of small Quantities of Jodine etc., Journal of Biological Chemistry, Vol. 7 (1910), S. 321–349.

in denen Milligramme oder Bruchteile von solchen an Jod zu suchen sind. Für derartige Fälle haben wir unsere Baryum-superoxydveraschung ausgearbeitet.

Die Oxydation des Jodids zu Jodat vollzieht Hunter durch Hypochlorit, das zunächst der alkalischen Lösung zugesetzt und hiernach durch Ansäuern mit Phosphorsäure zersetzt wird. Durch das freiwerdende elementare Chlor wird die Oxydation vollendet. Alle verbleibenden oxydierenden Stoffe außer Jodsäure sollen dann durch Kochen der Lösung verjagt werden. Zur Verflüchtigung gelangen so vor allem salpetrige Säure und Chlor.

Die Methode gab innerhalb der von ihrem Autor berücksichtigten Grenzen gute Resultate; die Übertragung auf die uns interessierenden Fälle hat jedoch nicht den gewünschten Erfolg gezeitigt.

Auf Grund unserer Erfahrungen mit der Hunter-Methode können wir zu verschiedenen Etappen einige Verbesserungsvorschläge machen, die zugleich eine Abschätzung der Vorzüge und Nachteile dieser und der anderen Methoden erleichtern werden.

Bei der Oxydation ist auf eine gute Hypochloritlösung zu achten, die dem Rat Hunters entsprechend aus einer nicht zu konzentrierten Lösung von Natriumhydroxyd e natrio metallico durch Einleiten von Chlor unter Vermeiden jeglicher Erwärmung hergestellt werden muß. Die Dosierung des Reagens ist schwierig bei Lösungen, die unbekannte größere Mengen oxydabler Substanzen enthalten. Man verwendet dabei leicht zu wenig Chlor, während andererseits ein größerer Überschuß sich schlecht entfernen läßt, besonders wenn das Volumen der Lösung etwas beträchtlicher ist. Wir haben auch manchmal in den alkalischen Lösungen der Schmelzen nach dem Zusatz des Hypochlorits einen deutlichen Jodoformgeruch wahrgenommen. Die Bildung dieser Verbindung muß aus geringen Mengen organischer Substanzen stattgefunden haben. Jedenfalls kann sie zu Jodverlusten führen und muß daher möglichst vermieden werden, was durch Zusatz des Hypochlorits erst nach dem Erkalten der Schmelzlösung am ehesten zu erreichen ist. Als dann sollte die Lösung in diesem Stadium sogleich weiter verarbeitet werden.

Die Entfernung der anderen oxydierenden Substanzen unter Schonung der Jodsäure schließt die hauptsächlichsten Unsicherheiten des Verfahrens in sich ein. Das überschüssige Chlor und die salpetrige Säure, um die es sich handelt, sollen durch Kochen mit Schwefelsäure oder Phosphorsäure entfernt werden. Jede dieser Säuren bringt nach unseren Erfahrungen gewisse Nachteile mit sich. In jedem Fall ist es nötig, daß die salpetrige Säure entweicht, ehe noch alles Chlor verflüchtigt ist, d. h. Chlor muß im Überschuß vorhanden sein. Durch Kochen der Schmelzlösung bei Gegenwart von salpetriger Säure wird nämlich die Jodsäure völlig zerstört, wovon auch wir uns überzeugt haben. Vielleicht läßt sich durch Zusatz von Ammonsulfat zu der angesäuerten Lösung diese Gefahr beseitigen, am sichersten aber durch einen genügenden Überschuß an Chlor. Wird Schwefelsäure verwendet, so sind auch nach unseren Beobachtungen die Resultate schlechter als bei Phosphorsäure. Wir schreiben dies vor allem der zersetzenden Wirkung auf die reichlich vorhandenen Chloride zu. Schwefelsäure macht aus diesen Chlorwasserstoff frei, der unter den Bedingungen des Versuchs die Jodsäure angreift und reduziert. Man kann solche jodsäurehaltigen Lösungen stundenlang unter Konstanthalten des Volumens destillieren und bekommt immer wieder ein Destillat, das oxydierend wirkt, da es nachweisbare Mengen Chlor enthält. Unter diesen Umständen ist es unmöglich zu sagen, in welchem Moment gerade das überschüssige Chlor bzw. die salpetrige Säure ganz entfernt ist und eine Zerstörung der Jodsäure noch nicht Platz gegriffen hat. Die gleichzeitige Anwesenheit von Nitrat und Chlorid in kochender schwefelsaurer Lösung gibt außerdem Anlaß zur Bildung von Chlor und Nitrit. Beide entweichen nur zum Teil; zum Teil bleiben sie zurück. Beide können einen Gehalt an Jod beim Titrieren vortäuschen; das Nitrit kann aber auch einen Jodsäureverlust bedingen. Jedenfalls bringt dieser Umstand eine gewisse Unsicherheit in das ganze Verfahren. Phosphorsäure bewirkt diese Störung in geringerem Maße, wie uns besondere Versuche zeigten.

Phosphorsäure macht, wenn ihre Konzentration in der

Lösung nicht zu stark wird, keine Salzsäure aus dem Chlorid frei; dadurch ist sie geeigneter für diese Versuche. Doch hat man auf eine andere Gefahr zu achten. Gerade da die Phosphorsäure eine ziemlich schwache Säure ist, macht sie auch, wenn nicht in genügendem Überschuß vorhanden, die salpetrige Säure nicht vollständig frei und kann so zu Fehlern Anlaß geben. So zeigten 5 ccm einer etwa 10%igen Natriumnitritlösung mit überschüssiger Phosphorsäure bei stets deutlich saurer Reaktion längere Zeit gekocht zwar zunächst keine Färbung mit Jodkaliumstärke mehr; doch sofort trat eine starke Blaufärbung bei Zusatz von mehr Säure auf als Zeichen, daß noch unzersetztes Nitrit in der Lösung verblieben war. Da wir nun (vgl. unter «Eigene Methode», «Titration») oft beobachteten, daß phosphorsaure Lösungen einer Schmelze trotz der Gegenwart von Jodat keine Bläuung aus Jodalkali und Stärke zeigten, sondern erst nach Zusatz von mehr Säure Jod frei werden ließen, so muß eine starke Konzentration der Phosphorsäure einmal zur Zerstörung des Nitrits, sodann zum Freimachen der Jod- und Jodwasserstoffsäure verlangt werden. Dann aber tritt wieder die Gefahr der Zerstörung von Jodsäure durch freien Chlorwasserstoff, wie oben erwähnt, in den Vordergrund, umsomehr, als beim Hinterschen Verfahren eine an Kochsalz reiche Lösung erhalten wird. Da die Zerstörung der salpetrigen Säure sich nun ziemlich sicher durch Kochen mit Harnstoff oder Ammonsulfat in phosphorsaurer Lösung erreichen läßt, so können wir besonders für Fälle, in denen es darauf ankommt, auch die letzten Spuren Nitrit zu entfernen, folgende Veränderung des Prozesses vorschlagen: Fortkochen des Chlors und Nitrits in phosphorsaurer Lösung unter Zusatz von Ammonsulfat oder Harnstoff (ersteres ist mehr zu empfehlen, da der Säuregehalt der Lösung sich nicht vermindert); 10 Minuten kochen dürfte genügen, wobei ein Einkochen der Lösung vermieden werden muß. Nach dem Erkalten wird Jodkali und Stärke zugesetzt und mit Schwefelsäure der zur sofortigen Zersetzung des Jodats nötige Säuregehalt der Lösung erreicht.

In diesem Zusammenhang müssen wir auf eine jüngst vorgeschlagene Methode zur Bestimmung der Säure in Magensaft auf jodo-

metrischem Wege zu sprechen kommen.<sup>1)</sup> Voraussetzung der Methode ist, daß gleiche Äquivalente verschiedener Säuren gleiche Mengen von Jod aus einer Jodatjodidlösung frei machen. Das ist aber nicht der Fall, zum mindesten bei den weniger starken Säuren und den schwachen Konzentrationen. Nur freie Jodsäure und freier Jodwasserstoff reagieren in der bekannten Weise unter Freiwerden von Jod. Beide Säuren sind aber zu den stärkeren zu rechnen und die Jodbildung wird unterhalb einer gewissen H-Ionenkonzentration überhaupt nicht einsetzen, bei etwas höherer Konzentration sehr allmählich verlaufen, da sich das gestörte Gleichgewicht immer wieder einstellen muß. Diese Erscheinung läßt sich leicht mit jeder verdünnten Lösung schwacher Säuren zeigen. Welcher Punkt soll also als Endpunkt dienen? Die allmähliche Bildung des Jods in einer an den verschiedensten, auch ungesättigten, organischen Verbindungen (Eiweißderivaten) so reichen Flüssigkeit, wie der Magensaft es ist, bietet außerdem reichlich Gelegenheit für Umsetzungen des freien Jods, das sich dadurch der Titration entzieht. Diese Methode muß nach alledem als nicht brauchbar bezeichnet werden.

Das zweite Verfahren der Jodbestimmung durch Titration stammt ebenfalls aus der neuesten Zeit. Es ist das von Bernier und Péron.<sup>2)</sup> Nach einer Verkohlung der organischen Substanz in Gegenwart von Alkali, die, wie wir oben ausgeführt, nicht weitgehend genug ist, wird das lösliche Salz durch wenig Wasser der Kohle entzogen und mit einer verdünnten Lösung von Kochsalz oder Natriumsulfat nachgewaschen. Die Oxydation des Jodids geschieht durch Kochen der alkalischen Lösung mit Kaliumpermanganat im Überschuß. Hierauf wird sofort mit Alkohol reduziert, filtriert und ein aliquoter Teil der Lösung mit 1 g Salmiak und 10 ccm Essigsäure 5—10 Minuten zum Sieden erhitzt. Die abgekühlte Lösung wird mit Essigsäure (10 ccm) und Jodkaliumlösung versetzt und mit Thiosulfat wie üblich titriert. Wir haben das Verfahren, das bei einiger Übung ganz handlich ist, geprüft, können aber zu seiner Anwendung nur raten, wenn es sich um Substanzen mit geringem Gehalt an organischem Material handelt (Urin). Dann genügen in den meisten Fällen die von den Autoren angegebenen Vorsichtsmaßregeln, die vor allem be-

<sup>1)</sup> Zentralblatt für innere Medizin, Nr. 35, 1911. — Dissertation M. Wezrumba, Bern 1911.

<sup>2)</sup> R. Bernier und G. Péron, l. c.

zwecken, das Nitrit zu zerstören bezw. seine Bildung hintanzuhalten. Diesem letzteren Bestreben ist auch die Vermeidung der vollständigen Veraschung mittels Salpeter entsprungen, die wir schon kritisiert haben. Die Zerstörung des Nitrits läßt sich aber nur bei Anwesenheit kleiner Mengen durch Kochen in saurer, zumal in essigsaurer Lösung mit Ammonsalzen oder Harnstoff quantitativ erreichen.

An diesem Punkt scheiterten denn auch unsere Bemühungen, das Verfahren für unsere Zwecke zu verwenden. Es verarbeiten ja Bernier und Péron selbst nur Mengen von 10 ccm oder gar 5 ccm Blut bei ihren Belegversuchen zur Bestimmung. In so kleinen Mengen kann man natürlich im normalen Blut kein Jod zu finden hoffen. Wenn wir so die Entfernung des Nitrits bei dieser Methode als besonders schwache Stelle empfinden, so ist die Oxydation, die nachherige Zersetzung des überschüssigen Oxydationsmittels und die Zerstörung des gebildeten Hypochlorits in der zweckmäßigsten Weise durchgeführt. Das alkalische Permanganat oxydiert die Jodide sehr schnell und vollständig. In keinem Moment ist ein Jodverlust möglich. Die Reduktion mit Alkohol vollzieht sich ebenfalls sehr glatt. Wir haben eine ganze Anzahl von Substanzen versucht, die eine Reduktion des Permanganats und Zerstörung des Hypochlorits ermöglichen sollten, ohne die gebildete Jodsäure anzugreifen und ohne selbst direkt oder durch Umwandlungsprodukte die späteren Operationen zu beeinflussen; so z. B. Formaldehyd, Oxalsäure, Wasserstoffsuperoxyd. Alle aber erwiesen sich als untauglich, während der Alkohol tatsächlich Permanganat und Hypochlorit zerstört und der Überschuß an Alkohol leicht in genügender Weise entfernbar ist.

Die Verwendung der Essigsäure zur Zerstörung des Nitrits mit Ammonsalz und zur Titration erscheint uns ungeeignet aus den an früherer Stelle dieser Arbeit angegebenen Gründen: sie gibt keine Gewähr für vollständige Nitritersetzung und genügt anderseits unter Umständen nicht zum Hervorrufen der Jodwasserstoff-Jodsäurereaktion bezw. gestaltet diese, wie von den Autoren selbst angegeben wird, in manchen Fällen

so langsam, daß das Auseinanderhalten der bei geringen Mengen Nitrit sehr langsam auftretenden Nitritblaufärbung und der zu messenden Jodatblaufärbung unmöglich wird. Man muß bestrebt sein, die Nitrite in ganz radikaler Weise zu zerstören, so daß man zur Titration in starksaurer Lösung schreiten kann, ohne — wenn überhaupt — mehr als Spuren von salpetriger Säure frei zu machen. Dann kann man auch die sofort auftretende Jodstärkereaktion der Jodsäure ganz genau von der allmählich nachfolgenden Nitritfärbung unterscheiden, sodaß die etwa übrig gebliebenen Spuren von Nitrit die Bestimmung nicht stören können.

Wir haben mit extrem verdünnten Jodat- und Nitritlösungen, die zu Salzlösungen ungefähr unter den Bedingungen des Versuches zugesetzt wurden, derartige Proben angestellt und konnten durchaus zuverlässig zuerst das Jod titrieren, das der Jodsäure seine Entstehung verdankt, und dann nach einigen Minuten Pause die ganz allmählich fortschreitende Bläuung durch die salpetrige Säure erkennen und nach längerem Warten auch diese bestimmen.

Diese Angaben seien durch nachfolgende Beispiele erhärtet: Je 25 ccm einer Jodkali und Stärke enthaltenden, nicht nachoxydierenden Lösung, von einer Jodbestimmung herrührend, wurden im einen Falle mit  $\frac{1}{2}$  ccm sehr verdünnter Jodatlösung versetzt. Es trat sofort Blaufärbung ein, die nach dem Entfärben mit 0,15 ccm  $n/100$ -Thiosulfat nicht wiederkehrte. Im Vergleichsversuch wurde eine sehr verdünnte Nitritlösung von etwa demselben Oxydationswert zugesetzt. Erst nach mehr als einer Minute beginnt die Lösung schwach blau zu werden, und nach mehr als 15 Minuten ist noch nicht das ganze Nitrit mit dem Jodwasserstoff in Reaktion getreten.

Ferner: Allergeringste Jodatenmengen geben eine Blaufärbung; geringste Nitritmengen nicht. 200 ccm der obigen Lösung +  $\frac{1}{2}$  ccm Jodatlösung (ca. 0,08 mg Jod enthaltend) gibt sofort Blaufärbung, die nach dem Entfärben nicht wiederkehrt. Die gleiche Menge Nitrit gibt auch nach längerer Zeit keine Bläuung. Die dabei gebildete Jodmenge liegt unter der Empfindlichkeitsgrenze der Jodstärkereaktion.

Wurde zu der genannten Lösung  $\frac{1}{2}$  ccm Jodat- und 3 ccm Nitritlösung zugesetzt, so fand sich durch Titration der sofort entstandenen Bläuung der richtige Wert für die Jodsäure, und erst nach 30 Minuten zeigte sich eine langsam fortschreitende Nachoxydation, die vom Nitrit herrührte (siehe auch S. 28).

### Eigenes Verfahren.

Unter Benutzung der bei den erwähnten Arbeitsmethoden gewonnenen Erfahrungen haben wir eine unseren Fragestellungen besonders angepaßte Methodik ausgearbeitet, die im folgenden geschildert sei.

#### A. Prinzip der Methode.

1. Verbrennung der organischen Substanz nach unserer Barymsuperoxydmethode. Reduktion der Schmelze. Aufnehmen der wasserlöslichen Salze aus der Schmelze und Fällung des Baryts. Hierauf Filtration.

2. Oxydation in sodaalkalischer Lösung mit Permanganat; Vollendung der Oxydation in schwefelsaurer Lösung. Reduktion des Permanganats in alkalischer Lösung unter Schonung der gebildeten Jodsäure mittels Alkohol. Entfernung des überschüssigen Alkohols aus dem Filtrat durch Kochen. Ansäuern mit Phosphorsäure und kurzes Kochen mit Ammonsulfat.

3. Nach Erkalten der Lösung und darauffolgendem Zusatz von Jodkali, Stärke und überschüssiger Schwefelsäure Titration mit Thiosulfat ( $n/100$ ).

#### B. Beschreibung der Methode.

##### 1. Die Veraschung mit $BaO_2$ .

Die zu veraschende Substanz wird mit kleinen Mengen reiner Natronlauge (e natrio metallico) und Soda völlig durchfeuchtet und hierauf in dem später zur Veraschung benutzten Eisentiegel wieder einigermaßen getrocknet. Dann wird mit Barymsuperoxyd (purissimum pro analysi. Merck), das fast halogenfrei, jedenfalls jodfrei ist, gemischt. Die Menge richtet

sich nach der Quantität der organischen Substanz. Für Schilddrüsen, die durch die Behandlung mit der Lauge zum völligen Zerfall gelangen, genügt eine Messerspitze des Superoxyds. Größere Substanzmengen z. B. Blutkoagula, nach unserer Methode dargestellt, werden portionenweise verbrannt, indem die getrocknete, alkalihaltige Masse mit dem Superoxyd in einer geräumigen Reibschale durchmischt und dann eventuell in mehreren Eisentiegeln zur Veraschung gebracht wird. Die Menge des  $\text{BaO}_2$  haben wir so gewählt, daß zunächst für 100 ccm ursprüngliches Blut je 50 g Superoxyd beigemischt wurden. Die Erhitzung erfolgte unter dem Abzug zunächst allmählich, wobei die letzte Feuchtigkeit entweicht; hierauf beginnt unter Glimmerscheinung die Verbrennung an einigen Stellen. Man läßt sie nicht zu heftig werden und setzt immer wieder neue Quantitäten des Gemisches zu. Die Masse wird, wenn kein Rauch mehr entweicht, mit neuen Mengen Superoxyd, die dünn obenauf gestreut werden, behandelt, bis keine Feuererscheinung mehr auftritt.

Nötigenfalls wird mit einem reinen Glasstab gerührt. Es hinterbleibt so bei den Blutkoagula eine grau bis schwärzlich gefärbte krümelige Masse, in der das überschüssige Superoxyd und andere reduzierbare Verbindungen durch Aufstreuen chemisch reiner gepulverter Tierkohle in bleibendem Überschuß sich zerstören läßt. Die Erhitzung soll nicht zu lange fortgesetzt und auch lokale Überhitzung durch lebhaftere Verbrennung, die mit größeren Quantitäten von  $\text{BaO}_2$  leicht vorkommen kann, möglichst vermieden werden.

Die Veraschung kleinerer Mengen gestaltet sich einfacher. Die getrocknete, mit  $\text{BaO}_2$  gemischte Substanz wird vorsichtig erhitzt und nach Ablauf der ersten Reaktion, die durch Beigabe von etwas calcinierter Soda gemildert werden kann, noch mehr  $\text{BaO}_2$  zugesetzt, wenn noch verbrennbare Substanz vorhanden ist. Ein Überschuß des Superoxyds wird wieder durch Kohle zerstört. Alle diese Operationen werden bei bedecktem Tiegel vorgenommen.

Die erkaltete Masse wird nun mit heißem Wasser behandelt, möglichst zerkleinert und in ein geräumiges Becherglas übergeführt.

Durch Auskochen der Tiegel und mit Hilfe des Glasstabes läßt sich der Tiegelinhalt herauspülen. Festhaftende Schmelzen werden erst durch Stehenlassen mit warmem Wasser durchweicht. Es wird nun in die Aufschwemmung der Schmelze Kohlendioxyd eingeleitet. Zur Beschleunigung der Ausfällung des Baryts kann auch etwas Natriumsulfat zugesetzt werden. Es ist nötig, von Zeit zu Zeit umzurühren. Wenn alles Baryum in Form von Carbonat und Sulfat niedergeschlagen ist, wird in einen geräumigen Jenaerkolben filtriert und mit heißem, etwas Soda oder Natriumsulfat enthaltendem Wasser gewaschen. Es resultiert eine klare, bei Blutkoagula meist etwas grünlich gefärbte Lösung. Diese enthält höchstens Spuren von Baryt und fast keine anderen Metalle, als die Alkalien. Tritt allmählich eine weiße Trübung im Filtrat auf, so zeigt das eine Unvollständigkeit der Barytfällung an und läßt sich, wenn zu beträchtlich, durch nochmalige Filtration nach Sulfatzusatz leicht entfernen.

## 2. Oxydation.

Das carbonatalkalische Filtrat wird mit Kaliumpermanganat (in Substanz oder in Lösung) versetzt und nach Zusatz einer kleinen Menge Talk zum Sieden erhitzt. (Jenaerkochkolben höchstens zur Hälfte füllen!) Die Menge des nötigen Permanganats läßt sich nicht angeben; sie variiert natürlich sehr stark je nach der Menge reduzierender Substanz in der Lösung. Es muß immer ein Überschuß davon da sein und zwar während der ganzen folgenden Operationen bis zum Zusatz des Alkohols. Für gewöhnlich kochen wir etwa 5 bis 10 Minuten, bei Koagula mit viel reduzierender Substanz aber bis zu 30 Minuten.

Nach vollendeter alkalischer Oxydation wird bei entfernter Flamme die Lösung durch vorsichtiges, langsames Zutropfen (schäumt besonders gegen Schluß!) mit starker Schwefelsäure (1 : 4) deutlich sauer gemacht und dann mit dem Kochen fortgeföhren (5—15 Minuten), wobei sorgfältig auf eine genügende Menge Permanganat zu achten ist. Die Lösung wird nun abgekühlt und mit reinster calcinierter Soda wieder alkalisch gemacht, wobei zweckmäßig unter dem Wasserhahn gekühlt wird.

Jedenfalls soll die Flüssigkeit nicht mehr warm sein, wenn in alkalische Lösung übergegangen wird, um jede neuerliche Nitritbildung zu vermeiden. Es wird nun sofort Alkohol zugesetzt, je nach der Menge des überschüssigen Permanganats 2 und mehr — bis 5 — ccm; aber stets so wenig, wie eben möglich, und dann unter Zugeben einer Spur Talk von neuem gekocht. Das Permanganat muß vollständig reduziert sein; worauf nach einigen Minuten, wenn der Alkoholgeruch des entweichenden Dampfes verschwunden ist, durch ein gutanliegendes Filter abgegossen werde. Das Filter sei immer mit der Lösung bedeckt. Zum Auswaschen halte man sich heißes Wasser bereit, dem einige Tropfen Alkohol zugesetzt werden. 2—3 maliges Waschen damit genügt in den meisten Fällen. Das Filtrat muß klar sein, eine gelegentlich vorkommende gleichmäßige Gelbfärbung schadet nichts. Dagegen ist eine bräunlich-gelbliche Trübung — offenbar kolloidal gelöste Manganoxyde — für die Titration störend und muß durch nochmaliges kurzes Kochen, eventuell unter neuerlichem Alkoholzusatz und Abfiltrieren beseitigt werden. Die klare manganfreie Lösung wird nach Zusatz einer kleinen Menge Talk kurz gekocht zur möglichsten Entfernung der letzten Alkoholreste (5 Minuten genügen) und hierauf wird mit starker Phosphorsäure (später verwendeten wir ein Phosphorsäure-Schwefelsäuregemisch) allmählich angesäuert und kurze Zeit weiter gekocht. Ein Zusatz von Ammonsulfat (reinstes zur Analyse) zur phosphorsauren Lösung wird von uns in der Regel vorgenommen, ist aber in den meisten Fällen nicht unbedingt nötig. Die Lösung enthält nunmehr keine oxydierenden Substanzen außer Jodsäure.

### 3. Titration.

Die abgekühlte Lösung wird mit Schwefelsäure bis zur deutlichen Bläuung von Kongopapier und hierauf mit Jodkali versetzt. Viel Jod verrät sich schon jetzt durch Braunfärbung. Man titriert in diesem Fall die mit etwas Schwefelsäure versetzte Lösung in üblicher Weise mit  $n/10$ -Thiosulfat, gegen Schluß unter Zusatz von Stärkelösung.

Handelt es sich um kleine Jodmengen, so wird  $n/100$ -Thiosulfat verwendet. Eine Gelb- oder gar Braunfärbung der Lösung

tritt dann natürlich nicht auf. Man setze also gleich Stärke und darauf noch etwas starke Schwefelsäure zu. Blaufärbungen, die von Jodsäure herrühren, erscheinen in stark schwefelsaurer Lösung sofort, auch wenn es sich um geringste Mengen handelt.<sup>1)</sup> Der Luftsauerstoff bewirkt in der Lösung erst lange nach der Titration die Bildung von freiem Jod und dementsprechend Blaufärbung. Bläuliche oder Rosafärbungen, die erst nach einigen Minuten auftreten — in der Regel verstärken sie sich kontinuierlich — zeigen eine Nachoxydation an, die bestimmt nicht von Jodsäure, sondern von Spuren salpetriger Säure, eventuell unterchloriger Säure herrührt. Sie wird in der Regel bei unserem Verfahren vermieden. Um aber eine besondere Sicherheit zu erreichen, wird mit einer kleinen abgemessenen Quantität der Lösung eine Vorprobe angestellt. Zeigt sich dann, eventuell nach dem Entfärben mit einer besonders verdünnten Thiosulfatlösung, eine Nachoxydation, so erhitze man die phosphorsaure Lösung mit schwefelsaurem Ammon nochmals 10 Minuten zum Sieden. Die erkaltete Lösung kann hiernach titriert werden und wird keine störende Nachoxydation ergeben.

### C. Erläuterungen zur Methode.

#### 1. Veraschung.

Bei der Oxydation mit  $\text{BaO}_2$  muß einerseits eine möglichst vollständige Verbrennung der organischen Substanz erreicht und andererseits müssen Jodverluste durch zu heftige Verbrennung vermieden werden. Dieses Ziel läßt sich bei Einhaltung unserer Vorschriften erreichen. (Vgl. Beleganalysen.)

Der Zusatz von Kohle nach Schluß der Veraschung bezweckt zunächst die Zerstörung des überschüssigen Superoxyds. Weil Wasserstoffsuperoxyd, welches aus überschüssigem  $\text{BaO}_2$  in die spätere Lösung übergeht, nicht leicht restlos wegzuschaffen ist, besonders wenn beträchtlichere Mengen davon

---

<sup>1)</sup> Der richtige Säuregrad wird durch starke Bläuung von Kongopapier angezeigt.

vorhanden sind, empfiehlt sich diese Maßregel. Man muß dann besonderen Wert auf die Entfernung des Superoxyds legen, wenn man nach der Verbrennung mit  $BaO_2$  das Huntersche Verfahren folgen läßt. Der Zusatz von Kohle bietet auch den Vorzug, daß eine gleichmäßigere Schmelze erhalten wird. Außerdem ist die Bildung von Jodat bei der Verbrennung nicht unwahrscheinlich und es könnten kleine Mengen Jod als schwerlösliches Baryumjodat im Niederschlag zurückbleiben. Durch den Kohlenzusatz wird dies ausgeschlossen. Regelmäßig kann man bei angesäuerten Proben der Lösung die Entwicklung von Schwefelwasserstoff nachweisen. Wenn so nach schwefelsaure Salze zu Sulfiden reduziert werden, darf umsomehr von Jodaten eine quantitative Reduktion zu Jodiden erwartet werden, die auch tatsächlich stattfindet.

Beispiel: 5 g Casein und 1,87 mg Jod als Jodat unter Zusatz von 1 g Soda mit  $BaO_2$  verascht und mit Wasser ausgezogen, ergaben 1,78 mg Jod.

Außerdem ist das Baryumjodat ja auch bis zu einem gewissen Grade in Wasser löslich. Wir konnten deshalb auch bei Versuchen, das Jod als Baryumjodat unter bestimmten Bedingungen quantitativ zu fällen, keine genügenden Resultate erzielen.

Der Hauptvorteil unserer  $BaO_2$ -Methode liegt aber in der Möglichkeit, das zugesetzte Oxydationsmittel ganz zu entfernen und eine verhältnismäßig salzarme Lösung zu erhalten.

Zur Entfernung des Baryts verwenden wir Kohlendioxyd, da es einerseits die Hauptmenge des Baryums zur Ausscheidung bringt und ein Überschuß im Gegensatz zur Schwefelsäure keine Störung der Jodbindung hervorzurufen vermag. Wenn von etwas mehr Alkalisalz in der Lösung kein Nachteil zu erwarten ist, dient uns Natriumsulfat zur Barytentfernung.

Will man die Salzarmut weitgehend steigern, so kann man schon zur anfänglichen Durchfeuchtung anstatt Kalilauge Ätzbarytlösung verwenden.

## 2. Oxydation.

Die alkalische Lösung wird zur Überführung von Jodid in Jodat mit Permanganat gekocht. Da die Jodsäure sehr

leicht Sauerstoff abgibt, ist darauf zu achten, daß stets ein Überschuß an Permanganat vorhanden ist. Bei dieser ersten, das ist alkalischen Oxydation bilden sich reichliche Mengen salpetriger Säure und zwar meist aus Cyaniden über das Zwischenprodukt der Cyanate. Die notwendige Beseitigung der salpetrigen Säure erreicht man durch Übergang in saure Lösung und Kochen, wobei wiederum die Jodsäure durch einen ständigen Überschuß des Permanganats geschützt bleiben muß.

Bei kochsalzhaltigen Substanzen (Blutfiltratanteile) entweicht auch Chlor.

Das Übergehen von alkalischer in saure Lösung, das wir im Gegensatz zu Bernier und Péron eingeschaltet haben, halten wir für unsere Zwecke für nötig. Wir entfernen durch die stärkere Oxydationskraft des Permanganats in saurer Lösung die letzten Anteile oxydabler Substanz unter Schonung der Jodsäure in viel weitgehendem Maße, als es sonst möglich wäre.

Die Reduktion des überschüssigen Permanganats mit Alkohol soll in alkalischer Lösung erfolgen. Bei unseren Versuchen mit größeren Substanzmengen waren die Resultate nicht einheitlich, solange wir die Lösung in der Wärme alkalisch machten. Der Fehler resultiert offenbar daraus, daß beim Alkalisierung in der Hitze kleine Mengen von salpetriger Säure neugebildet werden können. Wir erklären dies damit, daß kleinste Mengen von Cyaniden oder Cyanaten, die der Oxydation sich entzogen hatten, nun in der alkalischen Lösung angegriffen werden und Nitrit bilden. Das Neutralisieren geschehe deshalb in der Kälte und der alkalischen Lösung werde der Alkohol sofort zugesetzt.

Das Kochen mit Alkohol zerstört nicht nur das Permanganat, sondern auch die unterchlorige Säure und zwar, wenn genügend lange gekocht wird, quantitativ, wie auch wir nachweisen konnten. Die Lösungen mit beträchtlichem Chlorgehalt haben wir daher besonders sorgfältig und mit mehr Alkohol gekocht.

Wird genügend Alkohol genommen, und nach den Vorschriften der Methode heiß filtriert und ausgewaschen (siehe oben), so ist die Gefahr, oxydierende Manganverbindungen

ins Filtrat zu bekommen, äußerst gering. Beim längeren Stehenlassen des Niederschlages auf dem Filter und bei Auswaschen mit kaltem Wasser liefe man aber allzuleicht diese Gefahr.

Die manganfreie alkalische Lösung muß von Alkohol befreit sein, ehe man in saure Lösung übergeht, da freie Jodsäure durch Alkohol reduziert wird. Ein ruhiges und lebhaftes Kochen kann durch Gasdurchleitung oder Talkzusatz erreicht werden. Doch verwende man nur wenig Talk, um sich nicht die spätere Titration durch Undeutlichwerden des Umschlages zu beeinträchtigen. Der feine Talk hält nämlich ziemlich hartnäckig die blaue Jodstärke fest, sodaß ein Überschuß von Thio-sulfat zur Entfärbung nötig würde.

Nach Verjagen des Alkohols hätte das Kochen in schwefelsaurer, die freie Jodsäure enthaltender Lösung kein Bedenken mehr. Doch ziehen wir Phosphorsäure, bis zur eben deutlich sauren Reaktion zugesetzt, der Schwefelsäure vor. Jodsäure wird durch erstere nicht oder nur in geringem Umfang freigemacht, so daß Spuren von Alkohol oder von anderen oxydierbaren Stoffen keine Gelegenheit zur Einwirkung auf sie bekommen. Die kleinsten Mengen salpetriger Säure, um mehr kann es sich nicht handeln, werden aber durch das Kochen in phosphorsaurer Lösung bald entfernt. Außerdem können wir den Zusatz von Ammonsulfat als weitere Sicherheit zur Zerstörung der salpetrigen Säure empfehlen.

Der Zusatz von Phosphorsäure bringt auch noch den Vorteil, die Kohlensäure aus der Lösung zu entfernen, ehe freies Jod vorhanden ist. Man vermeidet dadurch Jodverluste, die beim Ansäuern der mit Jodkali versetzten, Jodat und Carbonat enthaltenden Lösung bei Entweichen des Kohlendioxyds durch eine allzu stürmische Gasentwicklung entstehen könnten.

Daß die Jodsäure bei allen diesen Vorgängen nicht alteriert wird, haben wir in ausgedehnten Vergleichsversuchen festgelegt, die ihrer Wichtigkeit wegen im Auszug angeführt seien:

Verwendete Jodatlösung: 2 ccm = 18,9 ccm  $\frac{1}{10}$ -Thiosulfat ( $f = 0,205$ )  
= 3,87 mg Jod (Mittelwert).

1. Kochen mit alkalischem Permanganat usw.

100 ccm  $H_2O$  + 5 ccm 5%ige NaCl-Lösung + 2 ccm  $KJO_3$   
+ Soda +  $KMnO_4$ .

- 3 Minuten alkalisch, 3 Min. sauer gekocht. Alkalisch reduziert usw.  
Gefunden: 18,7 ccm = 3,83 J.
2. Kochen mit saurem Permanganat usw. wie oben.  
Quantitäten wie bei 1., nur anstatt Soda 2 ccm Schwefelsäure (1 : 4).  
Saure Lösung 3 Min. gekocht. Gef.: 18,0 ccm = 3,69 mg Jod  
" " 12 " " " : 18,2 " = 3,73 " "
3. Reduktion mit Alkohol bei alkalischer Reaktion.
- a) 100 ccm  $H_2O$  + 2 ccm  $KJO_3$ -Lösung + Soda +  $KMnO_4$  und Alkohol.  
3 Minuten reduziert Mit Phosphorsäure und Ammonsulfat gekocht.  
Gefunden: 18,5 ccm = 3,79 mg Jod.
- b) Dasselbe, nur lange Zeit mit Alkohol gekocht.  
Gefunden: 18,6 ccm = 3,81 mg Jod.
- c) Dasselbe wie a, nur mit Zusatz von 5 ccm NaCl-Lösung (5%)  
3 Minuten gekocht. Gefunden: 18,9 ccm = 3,87 mg Jod.
- d) Dasselbe wie b, nur mit Zusatz von 5 ccm NaCl-Lösung (5%)  
12 Minuten gekocht. Gefunden: 18,4 ccm = 3,77 mg Jod.
4. Kochen mit Phosphorsäure bei Zusatz von Natriumchlorid.  
50 ccm  $H_2O$  + 2 ccm  $KJO_3$ -Lösung + 5 ccm 5% NaCl + 1 ccm  
 $H_3PO_4$  (Ph. Germ. V.).  
3 Minuten gekocht. Gefunden: 19,0 ccm = 3,89 mg Jod  
10 " " " : 18,5 " = 3,79 " "
- Dasselbe, nur mehr Phosphorsäure (10 ccm) zugesetzt.  
3 Minuten gekocht. Gefunden: 18,8 ccm = 3,85 mg Jod  
10 " " " : 18,8 " = 3,85 " "
5. Kochen mit Phosphorsäure bei Zusatz von Ammonsulfat und  
etwas Buttersäure.<sup>1)</sup>  
50 ccm  $H_2O$  + 2 ccm  $KJO_3$ -Lösung + 1 ccm  $H_3PO_4$  + Ammon-  
sulfat und 3 Tropfen Buttersäure.  
3 Minuten gekocht. Gefunden: 18,9 ccm = 3,87 mg Jod.  
Dasselbe mit 10 ccm  $H_3PO_4$ . Gef.: 18,7 " = 3,83 " "
6. Kombination von 4 und 5.  
50 ccm  $H_2O$  + 2 ccm  $KJO_3$  + 5 ccm NaCl-Lösung + 1 ccm  $H_3PO_4$   
+  $Am_2SO_4$  + Buttersäure.  
4 Minuten gekocht. Gefunden: 18,9 ccm = 3,87 mg Jod.  
Dasselbe mit 10 ccm  $H_3PO_4$ . Gef.: 18,8 " = 3,85 " "

#### Beobachtungen über das Verhalten von Jodsäure zu Alkohol.

Die Entfernung des Alkohols bis auf die letzten Spuren durch  
Kochen zu bewerkstelligen, ist sehr schwierig, wenn nicht unmöglich.

<sup>1)</sup> Ein deutlicher Geruch nach Fettsäuren, besonders Buttersäure,  
tritt meistens beim sauren Oxydieren und überhaupt beim sauren Kochen  
von Blufkoagulumanteilen auf.

Jedenfalls tritt im Destillat selbst nach 30 Minuten langem Kochen die überaus empfindliche Jodoformprobe noch schwach, aber deutlich auf. Es gilt also nachzuprüfen, ob die in der Lösung verbliebenen kleinsten Mengen beim nachherigen Kochen in phosphorsaurer Lösung die Menge der Jodsäure zu verringern imstande sind. Folgende Versuche zeigen die Verhältnisse:

2 ccm  $\text{KJO}_3$ -Lösung + 200 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  + 1 ccm Alkohol + Spur Soda und Talk werden am Destillierapparat gekocht. Die Proben des Destillats geben positive Jodoformprobe. Nach 38 Minuten wird unterbrochen abgekühlt, angesäuert und titriert: 18,6 ccm = 3,81 mg Jod. Derselbe Versuch wiederholt, mit dem Unterschied, daß erst nach 5 Minuten Kochen an den Destillationsapparat angeschlossen wurde. Die Jodoformprobe auch beim letzten Destillat (29 Minuten) noch positiv. Titr. 19,1 ccm = 3,92 mg Jod.

Folgt hieraus die Unzerstörbarkeit des Jodats durch Alkohol und die Schwierigkeit, letzteren ganz zu entfernen, so zeigen die folgenden Versuche, die den Bedingungen des Verfahrens angepaßt sind, daß diese Alkoholspuren auch bei saurer Reaktion nicht die Genauigkeit der Bestimmung stören können.

2 ccm  $\text{KJO}_3$ -Lösung + 200 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  + 1 ccm Alkohol 5 Minuten frei gekocht, dann Zusatz von 1 ccm starker Phosphorsäure und weiter gekocht am Destillierapparat. Die Destillate zeigen positive Jodoformprobe (10–15 Minuten). Nach dem Abkühlen und Ansäuern titriert: 19,0 ccm = 3,90 mg Jod.

Derselbe Versuch, nur Ansäuern mit 10 ccm Phosphorsäure. Die Destillate zeigen ebenfalls die positive Jodoformprobe. Die Titration ergibt 19,0 ccm = 3,90 mg Jod.

Bei einer blinden Probe mit den zur Jodoformprobe verwendeten Reagentien zeigte sich kein Jodoformgeruch.

### 3. Titration.

Bezüglich der dritten Etappe «Titration» haben wir auf die sehr oft wiederholte Beobachtung aufmerksam zu machen, daß eine Lackmus deutlich rötende Jodat enthaltende Lösung, deren saure Reaktion nur auf Phosphorsäure beruht, mit Jodkalium und Stärke keine Blaufärbung zu zeigen braucht, daß diese aber sofort auf Zusatz von mehr Phosphorsäure oder Schwefelsäure eintritt.

In anderen Fällen — bei einem geringen Überschuß von Phosphorsäure und bei Ausschluß nachoxydierender Stoffe — trat zwar ein allmähliches, langsam sich fortsetzendes Freiwerden von Jod ein; in den Parallelversuchen aber mit Zusatz von Schwefelsäure wurde die Umsetzung zu einem sofortigen

und definitiven Ende geführt. Diese Erscheinung rührt daher, daß nur die Reaktion zwischen freiem Jodwasserstoff und freier Jodsäure den bekannten momentanen Verlauf nimmt. Wird dagegen wegen zu geringer Konzentration der Wasserstoffionen der zugesetzten Säure nur ein kleiner Teil der genannten Säuren freigemacht, so findet auch die Abspaltung des Jods nur nach und nach statt. Aber gerade die Schnelligkeit, mit der die Bildung des freien Jods und damit die Blaufärbung auftritt, bietet die exakte Möglichkeit, bei starken Verdünnungen die Jodsäure von der allein noch in Betracht kommenden salpetrigen Säure zu unterscheiden. (Vgl. die Beispiele auf Seite 17.)

Die sämtlichen Faktoren, die bei der Titration der Jodsäure unter möglicher Anwesenheit von salpetriger Säure eine Rolle spielen, ergeben sich aus folgender Versuchsreihe über die Nachoxydation:

Zur Verwendung kamen verdünnteste Jodatlösungen und desgleichen Nitritlösungen. 10 ccm der jeweiligen Lösung werden mit 25 ccm Wasser versetzt und mit 1 ccm Schwefelsäure (1 : 4) angesäuert. Dabei lieferte das Jodat sofort und endgültig Jod, entsprechend 1,3 ccm  $n/100$ -Thiosulfat; das Nitrit langsam 4,5 ccm  $n/100$ -Thiosulfat entsprechende Jodmengen (und eventuell noch etwas mehr bei längerem Warten). 10 ccm jeder Lösung zusammen in 50 ccm Wasser mit viel Schwefelsäure (20 ccm) versetzt, gaben sofortige Bläuung, zunächst = 2,3 ccm Thiosulfat und dann alsbaldige Nachoxydation und Schluß derselben nach Zusatz von insgesamt 6,4 ccm Thiosulfat. Unter diesen Umständen (viel Säure und viel Nitrit) ist also eine Unterscheidung nicht möglich.

10 ccm jeder Lösung zusammen in 50 ccm Wasser mit nur 2 Tropfen Schwefelsäure versetzt gaben sofortige Bläuung = 1,35 ccm Thiosulfat. Nach ca. 4 Minuten war eine geringe Nachoxydation = 0,1 ccm eingetreten. Nach nochmals 5 Minuten wiederum 0,3 ccm usw. Mit mehr Schwefelsäure sofortige Bläuung = 0,9 ccm, die wieder weiter fortschreitet. Hier stimmt also der erste Titer auf das Jodat; das Nitrit kommt erst später zur oxydierenden Wirkung.

Es gibt aber Fälle, wie schon anderweitig ausgeführt, wobei Jodat allein eine Nachoxydation vortäuscht. Während 10 ccm Jodatlösung in 25 ccm Wasser durch 2 Tropfen Schwefelsäure sofort alles Jod frei werden lassen (1,3 ccm Thiosulfat), ist dies bei Zusatz von 4 Tropfen Phosphorsäure (300 g in 800 ccm Wasser) nicht der Fall. Hier wurde zunächst nur 1,0 ccm Thiosulfat verbraucht. Die Lösung wird wieder blau und diese Nachoxydation hört nach Zusatz von mehr Säure und der fehlenden Menge Thiosulfat = 0,3 ccm definitiv auf.

Die Parole muß also sein: zuerst Fortschaffung der gesamten salpetrigen Säure und hierauf Freimachen der Jodsäure mittels nicht zu geringer Konzentrationen — mindestens Kongo sauer! — von Schwefelsäure!

Da die zu titrierenden Lösungen neben Jodsäure auch Salpetersäure (aus dem oxydierten Nitrit) enthalten, so haben wir auch deren Wirkung auf Jodkalium und Stärke untersucht. Sie beeinträchtigt die Genauigkeit bei den in Betracht kommenden Konzentrationen<sup>1)</sup> und Temperaturen nicht; dagegen kann sie, wenn der Alkohol beim Übergang in phosphorsaure Lösung nicht entfernt war, Anlaß zur Bildung kleiner Mengen salpetriger Säure geben. Bei alkalischer Reaktion findet keine Umsetzung mit dem Alkohol statt.

#### D. Beleganalysen des Verfahrens.

Zuerst wurde die Brauchbarkeit der Methode an reinen Jodkaliumlösungen von bekanntem Gehalt geprüft. (Permanganat-oxydation alkalisch und sauer, Reduktion usw. nach obiger Vorschrift.)

Angewendet		Titriert	Gefunden
2 ccm KJ-Lösung (1) =	9,6 mg J	4,4 ccm $n_{10}$ -Thios. ( $f=2,15$ )	9,5 mg J
10 >	> (1) = 48,0 >	> 22,7 > > ( $f=2,1$ )	47,7 >
10 >	> (1) = 48,0 >	> 22,8 > > ( $f=2,1$ )	47,9 >
0,5 >	> (1) = 2,4 >	> 14,4 > $n_{100}$ -Thios. ( $f=0,166$ )	2,39 >
0,5 >	> (1) = 2,4 >	> 14,5 > > ( $f=0,166$ )	2,41 >
0,5 >	> (2) = 2,37 >	> 11,1 > > ( $f=0,202$ )	2,24 >
0,5 >	> (2) = 2,37 >	> 11,6 > > ( $f=0,202$ )	2,34 >

<sup>1)</sup> Vgl. auch den Abschnitt «Beschaffenheit der Reagentien».

Bei einer größeren Probe gravimetrisch kontrolliert: 9,56 mg J in 2 ccm KJ-Lösung (1) und 9,48 mg in 2 ccm KJ-Lösung (2).

Angewendet	Titriert	Gefunden
10fach verdünnte KJ-Lösung 25 ccm = 1,2 mg J	9,5 ccm <sup>1)</sup>	0,95 mg J
„ 4 „ = 0,192 „ „	0,85 „ <sup>1)</sup>	0,185 „ „
„ 2 „ = 0,096 „ „	0,95 „ <sup>1)</sup>	0,095 „ „
„ 1 „ = 0,048 „ „	0,6 „ <sup>1)</sup>	0,06 „ „
„ 5 „ = 0,24 „ „	0,9 „ <sup>n/100 (f = 0,2)</sup>	0,18 „ „

Damit war eine genügende Genauigkeit des Verfahrens für die einfachsten Fälle dargetan. Die nächste Aufgabe war, festzustellen, ob das Verfahren in Gegenwart nicht unbeträchtlicher Mengen verschiedener Salze, wie sie in dem Veraschungsgemisch vorkommen, anwendbar sei. In der oben beschriebenen, durch zahlreiche Versuche erprobten Weise durchgeführt, liefert es durchaus brauchbare Werte, wie folgende Analysen zeigen:

Angewendet						Gefunden
KJ-Lösung	= mg Jod	Wasser	KCN 10%	NaCl g	Soda g	mg Jod
0,5 (1)	2,4	200	5	0	10	2,6
0,5 (1)	2,4	150	5	0	6	2,1
0,5 (1)	2,4	150	5	0,5	6	2,1
1 (2)	4,76	150	10	0	2	4,64
5 (2)	23,65	200	2,5	5ccm 5%	2	23,60
5 (2)	23,65	200	2,5	„	2	23,40

Besonderen Nachdruck haben wir auf die Erforschung des Einflusses der Cyanide gelegt, weil diese sich während der Veraschung naturgemäß und zwar oft in recht beträchtlichen Mengen bildet. Bei der Einwirkung des Permanganats sind sie dann die Quelle für salpetrige Säure. Sie lassen sich nur bei sorgfältiger Einhaltung der Arbeitsbedingungen un-

<sup>1)</sup> Die Titration erfolgte mit einer etwa  $n/100$ -Thiosulfatlösung (Faktor 0,599, zur Jodberechnung 0,1). Derartig verdünnte Lösungen wurden stets frisch eingestellt gegen eine Bichromat-Standardlösung.

schädlich machen. Mit dem Nachweis der Unschädlichkeit der Cyanide ist auch der Beweis für die Möglichkeit der Ausschaltung einer störenden Nitritwirkung erbracht.

Die Anwendbarkeit der Methode auf die Bestimmung organisch gebundenen Jods sei durch folgende Analysen gezeigt.

Zur Gewichtskonstanz getrocknetes Jodeiweiß:

0,3864 g	gaben	14,45 mg	Jod	3,74 ‰	Jod.
0,3265	»	12,3	»	3,76 ‰	»
0,2475	»	9,51	»	3,84 ‰	»
0,2949	»	0,0211 g	AgJ	3,87 ‰	(Gravimetrisch).

Wir haben das Verfahren auch bei Schilddrüsen Säften in Kombination mit unserer Trennung von anorganischem und organischem Jod angewendet. Die Beispiele sind bei den Belegen zum Trennungsverfahren aufgeführt.

Von großer Wichtigkeit war die Bestimmung bekannter Mengen Jod in Anwesenheit größerer Mengen organischer Substanz. Zu diesen Versuchen haben wir abgewogene Mengen jodfreien Caseins,<sup>1)</sup> sowie auch Blutproben,<sup>2)</sup> denen bestimmte kleinste Mengen Jodkalium zugesetzt waren, der Veraschung und Analyse unterworfen.

	Angewandtes Casein g	Zugesetztes Jod mg	Gefundenes Jod mg
1.	10	0,24	0,18
2.	10	0,24	0,15
3.	10	0,48	0,24
4.	20	0,48	0,48
5.	20	0,24	0,12

Die Verluste in dieser vollständigen Versuchsreihe betragen demnach im Maximum 0,24 mg J; minimal Null und im Durchschnitt 0,1 mg Jod!

### Beschaffenheit der Reagentien.

Die erste Bedingung, welche die zu verwendenden Reagentien erfüllen müssen, ist natürlich vollständige Jodfreiheit.

<sup>1)</sup> Eine Probe von 12 g reinem Casein ergab kein Jod.

<sup>2)</sup> Belege siehe bei «Belege zum Trennungsverfahren». II. Mitteilung.

Das ist bei den Substanzen «pro analysi» der Fall, muß aber von Zeit zu Zeit durch blinde Versuche geprüft werden. Mit besonderer Sorgfalt ist auf die Reinheit der für die Titration in Betracht kommenden Substanzen zu achten: mäßig starke Schwefelsäure, jodfreies Jodkali und reines destilliertes Wasser! Proben dieser drei Agentien dürfen mit der zu verwendenden Stärkelösung versetzt längere Zeit (mindestens 10 Minuten) keine Blaufärbung geben. Die Säure darf nicht zu konzentriert sein, da sonst beim Zusatz derselben zu der nitrathaltigen Lösung fast regelmäßig eine geringfügige Blaufärbung durch Zersetzung der Nitrate zu beobachten ist. Das Jodkali und das Wasser darf keine oxydierenden Substanzen, auch nicht in Spuren, enthalten.

Große Schwierigkeiten bereitete uns eine Zeitlang eine reduzierende Verunreinigung der Phosphorsäure, die wir für phosphorige Säure halten. Es zeigte sich beim Kochen mit solcher Säure oft ein beträchtlicher Verlust an Jodsäure, im allgemeinen der Menge der verwendeten Phosphorsäure entsprechend. Wir fanden, und zwar auch bei Lösungen reiner krystallisierter Phosphorsäure, ein besonders in der Wärme stark ausgesprochenes Reduktionsvermögen gegenüber Permanganat. Diese Verunreinigung, die ebensogut wie das Permanganat auch die Jodsäure reduzieren kann, wurde auf folgende Weise unschädlich gemacht: Die Phosphorsäurelösung wird mit  $n/10$ -Permanganat bis zur bleibenden hellrosa Farbe versetzt, und hierauf bis nahe zum Sieden erhitzt. Dabei tritt wiederum Entfärbung auf. Der Zusatz des Permanganats wird fortgesetzt, solange bis die Rosafärbung längere Zeit bestehen bleibt. Mit einigen Tropfen  $n/10$ -Oxalsäure wird der Überschuß von Permanganat zersetzt. Man vermeide es, zuviel Oxalsäure zuzusetzen, weil diese beim Sieden ebenfalls Jodsäure zerstört.

Wir haben beispielsweise beim Kochen von jodsäure- und oxalsäurehaltigen Lösungen über 50% der ersteren zerstören können. Um beim Kochen die Phosphorsäure und ihre Verunreinigung außerdem noch quantitativ zu beschränken, verwenden wir neuerdings zum Ansäuern der alkoholfreien Lösungen ein Gemisch aus 3 Volumina Phosphorsäure (1 : 4 Gewichtsteile) und 2 Volumina Schwefelsäure (1 : 4 Volumteile).

### Anwendungsgebiete des Verfahrens.

Das von uns ausgearbeitete Verfahren bietet für alle Fälle, ob es sich um große oder kleine Substanzmengen handeln mag, ob viel oder wenig Jod vorhanden ist, die größte Sicherheit vor Irrtümern. Für die Fragestellung, ob überhaupt Jod vorhanden ist, ist es wegen der radikalen Entfernung aller anderen oxydierenden Substanzen, die beim Arbeiten nach Hunter oder Bernier und Péron einen Jodgehalt vortäuschen können, das einzig einwandfreie. Die kolorimetrischen Verfahren können nach unseren obigen Ausführungen hierbei nicht konkurrieren.

Für gewisse Fälle (Schilddrüsen, Jodeiweiß, Urin, nicht aber Blut) dürfen wir das Huntersche Verfahren, das ja etwas schneller zum Ziele führt, empfehlen. Da der hier nicht zu vermeidende Jodverlust durch das Übrigbleiben kleinster Mengen oxydierender Substanzen gewöhnlich gerade kompensiert wird, sind die Resultate gut; aber nicht völlig eindeutig. Das Verfahren von Bernier und Péron — unter Ausschluß ihrer ungenügenden Zerlegung der organischen Materie — liefert ebenfalls innerhalb gewisser Grenzen gute Werte, ist aber weniger sicher, da die Gefahr einer Vortäuschung von Jod durch Nitrit recht groß ist.

### II. Mitteilung.

#### Trennung von organischem und anorganischem Jod in Blut und Organen.

Die Frage, ob die Schilddrüse ihren charakteristischen Jodeiweißkörper in die Blutbahn hineinsendet, ist nur dann bejahend zu entscheiden, wenn im Blut Jod regelmäßig vorkommt und das etwa nachgewiesene Jod als organisch gebundenes identifiziert werden kann. Um eine Sekretion des Jodeiweißkörpers annehmen zu dürfen, muß demnach der Nachweis erbracht sein, daß vorhandenes Jod in organischer Bindung vorliegt. Anorganisches Jod kann der Nahrung entstammen oder von einer Aufspaltung des Schilddrüsen-eiweißes herrühren. Im letzteren Falle aber müßte neben dem anorganischen auch organisches Jod sich nachweisen lassen. Darin

liegt die eminente Wichtigkeit der Auffindung einer Methode, die quantitativ die Trennung von Jodeiweiß und Jodalkali gewährleistet.

Soviel wir sehen, sind dahingehende Versuche nicht gemacht worden; nur die Experimente von Gley und Bourcet<sup>1)</sup> dienen dem Bestreben, das im Blut gefundene Jod etwas zu klassifizieren. Diese Autoren fanden das Blut mancher Tiere jodhaltig, und zwar fanden sie den Blutkuchen jodfrei, das Serum jodhaltig, und beobachteten, daß beim Dialysieren dieses letzteren das Jod nicht vollständig fortging, woraus auf ein Vorliegen von Jodeiweiß und weiterhin auf eine Sekretion der Schilddrüse geschlossen wurde. Daß die Dialyse aber eine vollständige Entfernung des Jodalkalis vom Eiweiß nicht erreicht und dadurch dies Verfahren zu Trugschlüssen führt, davon konnten wir uns mehrfach überzeugen: Ein wenig jodfreies Serum wird mit einer geringen Dosis Jodkalilösung versetzt und dann 36 Stunden gegen fließendes Wasser dialysiert. Im Dialysierrückstand sind zwar kleine, doch sicher nachweisbare Jodmengen vorhanden, die also organisches Jod vorge-tauscht hätten. Wir können hiernach die mit der Dialyse gewonnenen Resultate nicht als beweiskräftig für die Anwesenheit von organisch gebundenem Jod im Blut anerkennen.

Um eine quantitative Abtrennung von organischem und anorganischem Jod zu bewerkstelligen, suchten wir nach einem Koagulationsmittel, das bei möglichst wenig spaltender Wirkung die Eiweißkörper vollständig zur Fällung bringt, während das anorganisch gebundene Jod gelöst in dem vom Eiweiß befreiten Anteil verbleibt. Ein solches Agens fanden wir im Aceton, das den andern von uns für diesen Zweck versuchten Fällungsmitteln weit überlegen war, da es einerseits Eiweiß und Jodeiweiß in der Kälte vollständig fällte und andererseits ein klares Filtrat, in dem das ganze Jodkali sich vorfand, lieferte. Daß die Acetonmethode anderen Trennungsverfahren überlegen ist, zeigte uns folgender Vergleichsversuch:

---

<sup>1)</sup> Bourcet, l. c., und Gley und Bourcet, Comptes rendus, Bd. 130, S. 1721 (1900).

Je 100 ccm Hammelblut, mit Oxalsäure ungerinnbar gemacht, wurden mit 2,4 mg Jod als Jodkali versetzt und die folgenden 3 Verfahren verglichen:

1. Fällung mit 2 Volumen reinsten neutralen Acetons, Absaugen, Waschen mit wässrigem Aceton, Verbrennung nach Abdestillieren des Acetons bei alkalischer Reaktion;

2. Fällung mit 1 Volumen konzentrierter Ammoniumsulfatlösung und Essigsäure bei Wasserbadtemperatur, Waschen mit essigsäurehaltigem Wasser, Einengen nach dem Neutralisieren mit reiner Natronlauge und Verbrennung:

3. Fällung mit Phosphorwolframsäure, Waschen mit schwefelsäurehaltigem Wasser, Einengen nach der Neutralisierung und Verbrennung der zwei Anteile.

Erhalten nach Methode Hunter	Filtratanteil mg Jod	Koagulumanteil mg Jod
1. Acetonverfahren . . . . .	2,3	0
2. Essigsäure-Ammonsulfat . . . . .	1,7	0,64
3. Phosphorwolframsäure . . . . .	0,5	1,4

Außerdem war die Bearbeitung der salzarmen Lösung bei der Acetonfällung beträchtlich bequemer als die Veraschung der erst neutralisierten sehr salzreichen Produkte bei den anderen Verfahren. Für unsere Zwecke war das Aceton besonders noch deshalb geeignet, weil jede Spaltung des Jodkalis, die durch die Behandlung in saurer Lösung leicht eintreten könnte, hier völlig vermieden wird.

Wie weit die Zuverlässigkeit des Mittels für eine Trennung organischen und anorganischen Jodes geht, zeigten uns Versuche mit analysierten Schilddrüsen-säften, denen bei einzelnen Versuchen bestimmte Mengen Jodid zugesetzt wurden. Außerdem wurde das Verfahren auch in analoger Weise bei Blut geprüft und hat sich uns immer bewährt.

### Acetonfällungsverfahren.

Das nach Erprobung verschiedener Arbeitsweisen zweckmäßigste Verfahren ist das folgende:

Auf 1 Volumen des durch Ammonium- oder Natriumoxalat ungerinnbar gemachten Blutes — ca. 0,1% — werden 4 Volumina reines Aceton unter Umrühren zugegossen, bzw. es wird das Blut direkt in Aceton einlaufen gelassen. Es tritt sofort Koagulation ein. Das mehr oder weniger dunkelrote, feinflockige Koagulum setzt sich alsbald ab, während die überstehende Lösung eine hellgelbe Farbe von verschiedener Intensität bei den verschiedenen Blutsorten zeigt. Nach etwa einstündigem Stehen filtriert man an der Nutsche und wäscht mit wasserhaltigem ca. 80%igem Aceton nach. Meistens ist dann das anorganische Jod schon ganz entfernt. Wir haben aber, um jeden Irrtum auszuschließen, stets den Rückstand nochmals in wasserhaltigem Aceton stehen lassen, einerseits um diese wässerigacetonige Lösung für sich nochmals auf Jod prüfen zu können (d. h. auf Vollständigkeit der Extraktion des Jodalkalis), andererseits um das Trockenwerden des Koagulums zu verhindern. Die koagulierte Masse, die zuerst ein leicht zu behandelndes, lockeres Pulver darstellt, wird nämlich beim Eintrocknen zäh und fest, und hält dann kleine Mengen Jodkali erstaunlich hartnäckig fest:

100 ccm mit Jodkali versetztes Blut (14,4 mg Jod enthaltend) wurde mit Aceton gefällt und nachgewaschen; das Koagulum getrocknet ergab dann noch 2 etwas jodhaltige Extrakte; der dritte war jodfrei. Trotzdem enthielt der Rückstand noch 0,36 mg Jod als Jodkalium. In ebenso angestellten Versuchen wurde regelmäßig das Koagulum selbst durch Auskochen, sogar mit angesäuertem Aceton nicht jodfrei erhalten. Die wiederholten Extraktionen entzogen immer nur Spuren von Jod, ohne es völlig herauszuholen.

Zum Beispiel:

1. Extrakt	0,12 mg Jod
2.     »	0,04   »   »
3.     »	0,06   »   »

Trotzdem enthält der Rückstand noch 0,46 mg Jod.

Der Filtratanteil, der die löslichen Mineralsalze und die Hauptmenge der Fettkörper sowie gewisse andere, in ver-

dünntem Aceton<sup>1)</sup> lösliche Substanzen enthält, wird durch Zusatz einiger Kubikzentimeter 30%iger Natronlauge (e natrio metallico) stark alkalisch gemacht und in einem geräumigen Kolben unter Zutropfen aus dem Tropftrichter abdestilliert. Die verbleibende wässerige Lösung wird portionenweise (vorsichtig wegen Schäumens!) im Eisentiegel getrocknet. Besondere Versuche zeigten uns, daß sodaalkalische Reaktion nicht sicher genügt, um bei diesen Operationen Jodverluste zu vermeiden, während Lauge zuverlässig wirkt. Die im Eisentiegel getrocknete Lösung wird mit Baryumsuperoxyd verascht. Um aber das Superoxyd möglichst gleichmäßig zu vermengen, empfiehlt sich der Zusatz eines gewissen Anteils davon, in die noch nicht vollständig eingetrocknete Masse.

Das Koagulum wird verarbeitet, wie in der vorigen Mitteilung bei «Eigenes Verfahren» angegeben.

Auf die Qualität des Acetons ist besonders zu achten. Viele Sorten des käuflichen Präparates reagieren sauer und färben sich mit Jodkali gelb unter Freiwerden von Jod. Das darf natürlich nicht der Fall sein. Wir haben deshalb stets reinstes käufliches Aceton nochmals über Kalk und etwas Thio-sulfat destilliert und dadurch gleichzeitig eine Verunreinigung mit Jodwasserstoff ausgeschlossen. Bei einigen früheren Versuchen hatten wir etwas verdünntes  $n/10$ -Thiosulfat dem Aceton direkt beigemischt.

Das Aceton werde dem Blut im Verhältnis von 4 : 1 zugesetzt; 2—3 Volumina auf 1 Volumen Blut erzielen nicht immer eine vollständige Fällung.

Die Temperatur bei der Fällung zu erhöhen, bezw. mit Aceton zu kochen, ist unzweckmäßig; man erhält nur dunkler gefärbte Filtrate. Die Einwirkung auf das Blut im Sinne einer Trennung ist also nicht so günstig. Zusatz von Säuren (Essigsäure) zu Aceton führt zu einer Extraktion von Blutfarbstoffen, die bei Vermeidung von Säuren und in der Kälte nicht eintritt. Die Fällung mit reinstem Aceton in der Kälte ist dem-

<sup>1)</sup> Aceton erscheint uns für die Blutanalyse noch in mancher Beziehung mit Vorteil verwendbar. Dahingehende Untersuchungen sind im biologischen Institut zurzeit im Gange.

nach das beste Verfahren. Wie weitgehend die Verwendbarkeit des Verfahrens für Zwecke der Jodtrennung ist, zeigen die Beispiele im folgenden Abschnitt.

#### Belege zum Acetonverfahren.<sup>1)</sup>

100 ccm Hammelblut + 2,4 mg Jod als Jodkalium mit 400 ccm Aceton gefällt, abgesaugt und mit 80%igem Aceton nur einmal nachgewaschen, Koagulum getrocknet und nicht weiter extrahiert. Das Filtrat zum Teil nach Hunter, zum Teil nach Blum-Grützner bearbeitet.

Erhalten:

0,26 mg Jod im Koagulum

0,98 » » » Filtrat (1. Hälfte nach Blum-Grützner)

1,07 » » » » (2. » » Hunter)

2,31 mg Jod.

Daraus folgt: Bei der Gesamtprozedur ist sehr wenig Jod verloren gegangen. Das Huntersche und unser Verfahren lieferten übereinstimmende Werte. Das Koagulum ist nicht genügend ausgewaschen und hält deshalb noch eine kleine Menge des Jodkaliums zurück (siehe oben S. 36).

50 ccm Blut + 0,5 ccm Jodkalilösung = 2,4 mg Jod mit 200 ccm Aceton gefällt und ausgewaschen zeigten

im Filtrat 2,20 mg Jod

» Koagulum 0,1 » »

die nicht extrahiert worden waren.

Dieser Fehler des ungenügenden Auswaschens spielte auch eine Rolle im folgenden Beispiel, in dem außerdem untersucht wurde, ob die Art des Fällens einen Einfluß zeigen würde.

Je 25 ccm Blut mit 0,5 ccm Jodkalilösung (2) = 2,37 mg Jod versetzt, wurden einmal langsam unter Umrühren (1), das andere Mal schnell (2) mit 100 ccm Aceton versetzt. Äußerlich unterschieden sich die Fällungen durch den Grad der Feinheit. Es wurde nur einmal nachgewaschen und das Koagulum und Filtrat auf Jod untersucht.

<sup>1)</sup> Soweit nichts anderes angegeben wird, sind die Analysen nach unserem Verfahren durchgeführt.

Es ergaben:

1. Koagulum	0,04 mg Jod.	2. Koagulum	0,10 mg Jod.
1. Filtrat	2,20 » »	2. Filtrat	2,22 » »
Zusammen	2,24 mg Jod.		2,32 mg Jod.

Die Differenzen liegen innerhalb der Fehlergrenze. Es scheint aber, als ob das grobflockige Koagulum (2) weniger leicht vollständig von eingeschlossenem Jodkali frei zu waschen sei. Bei wiederholter Extraktion wären beide Koagula jodfrei befunden worden. Das mögen die folgenden Versuche zeigen.

50 ccm Blut + 0,5 ccm Jodkalilösung = 2,4 mg Jod, gefällt mit 200 ccm Aceton ergaben:

im Filtrat	2,26 mg Jod
» 1. Acetonextrakt	0,04 » »
» 2. »	0 » »
» Koagulum	0 » »

25 ccm Blut + 0,1 ccm Jodkalilösung = 0,47 mg Jod, gefällt mit 100 ccm Aceton und wiederholt nachgewaschen, ergaben:

im Filtrat	0,37 mg Jod
» Koagulum	0 » »

50 ccm Blut + 0,15 ccm Jodkalilösung = 7,11 mg Jod, gefällt mit 200 ccm Aceton und nochmals mit 80%igem Aceton ausgezogen, ergaben:

im Filtrat	6,92 mg Jod
» 1. Extrakt	0,06 » »
» Koagulum	0 » »

50 ccm Blut + 0,05 ccm Jodkalilösung = 0,24 mg Jod, gefällt mit 200 ccm Aceton ergaben

im Filtrat	0,23 mg Jod
» 1. Extrakt	0 » »
» Koagulum	0 » »

100 ccm Blut + 0,1 ccm Jodkalilösung (1) = 0,48 mg Jod, gefällt mit 400 ccm Aceton ergaben

im Filtrat	0,3 mg Jod
» 1. Extrakt	0 » »
» Koagulum	0 » »

25 ccm Blut + 0,25 ccm Jodkalilösung (2) = 1,18 mg Jod,  
gefällt mit 100 ccm Aceton ergaben

im Filtrat	1,12 mg Jod
» 1. Extrakt	0 » »
» Koagulum	0 » »

Nachdem es möglich geworden ist, durch die Acetonfällung das anorganische Jod aus dem Blut vollständig abzuscheiden, ist damit auch erreicht, das organisch gebundene Jod für sich allein zu bestimmen. Bemerket sei, daß wir bei organisch gebundenem Jod hier das an Eiweißkörper gebundene Jod im Sinne haben, das ins Koagulum geht. Jodhaltige Fettkörper müßten eventuell im Filtrat auftreten; diese spielen aber, wie uns verschiedene Versuche mit Schilddrüsen und SchilddrüSENSÄFTEN zeigten, unter normalen Verhältnissen eine quantitativ nicht in Rechnung zu setzende Rolle.

Zur Prüfung, ob organische Jodsubstanzen im Blut sich als solche nachweisen lassen, haben wir analysierte SchilddrüSENSÄFTE in bestimmten Quantitäten dem Blut zugesetzt, und dann das Acetonverfahren angewandt.

10 ccm SchilddrüSENSAFT (wässriger Extrakt) enthielten ohne Trennung verascht 1,13 mg Gesamt-Jod (Hunter). 2 Proben zu je 10 ccm desselben Saftes mit 200 ccm Aceton behandelt ergaben

im Koagulum	1. 0,99	2. 0,98 mg Jod
» Filtrat	1. 0,06	2. 0,04 » »
Total:	1. 1,05	2. 1,02 mg Jod (Hunter).

Eine mit 4 Teilen Aceton behandelte Probe

Koagulum	1,06 mg Jod
Filtrat	0,04 » »
Total:	1,10 mg Jod

Von diesem Saft, der also 1,01 mg organisch gebundenes Jod und 0,05 mg anorganisches Jod im Durchschnitt in 10 ccm enthielt, wurden 10 ccm in 200 ccm Hammelblut eingetragen und nunmehr die Trennung durchgeführt.

Das Koagulum enthielt 1,31 mg Jod

» Filtrat » 0,13 » »

Total: 1,44 mg Jod (Hunter).

Der geringe Mehrbefund kommt nicht etwa von einem Jodgehalt des Blutes her, sondern ist eine Erscheinung, die besonders bei Verwendung größerer Mengen organischer Substanz der Hunterschen Methode eigentümlich ist (s. o.).

Da wir beobachteten, daß höchst salzarme Jodeiweißlösungen auch durch viel Aceton nicht genügend gefällt werden, sondern erst auf Zusatz kleiner Mengen eines Elektrolyten, so haben wir einen Schilddrüsensaft für sich und mit wachsenden Kochsalzmengen versetzt in dieser Hinsicht untersucht. Wie die Resultate zeigen, hatte dieser Umstand auf die Vollständigkeit der Fällung hier keinen Einfluß. Es bildeten nur die salzhaltigen Proben einen etwas grobflockigeren Niederschlag.

	Koagulum	Filtrat
I. 10 ccm Saft ohne Zusatz . . . . .	1,10 mg J	0,01 mg J
II. 10 » Saft + 0,1 g NaCl . . . . .	1,10 » »	0,02 » »
III. 10 » Saft + 0,2 g NaCl . . . . .	1,12 » »	0,02 » »

Im Anschluß an diese Schilddrüsensaftanalysen sei ein Versuch mitgeteilt, bei dem zu 100 ccm Hammelblut 10 ccm des obigen Saftes und 0,2 ccm der Jodkalilösung = 0,98 mg Jod zugesetzt worden ist.

Gefunden: Im Koagulum 1,02 mg Jod

» Filtrat 0,87 » »

Ein anderer Schilddrüsensaft enthielt in 10 ccm

im Koagulum 0,88 mg Jod

» Filtrat 0,03 » »

100 ccm Blut — von diesem Blut hatten sich 100 ccm als jodfrei erwiesen — wurden mit 1 ccm Jodkalilösung = 4,8 mg Jod, sowie 10 ccm dieses Saftes versetzt. Wir erhielten

im Koagulum 0,96 mg Jod

» Filtrat 4,37 » »

