

Bestimmung von Jodiden in jodierten Salzen

Von Prof. Dr. Ing. J. D'ANS und TH. KANAKOWSKY, Berlin, Kaliforschungsanstalt G.m.b.H.

Grögers Methode der Oxydation des Jodids zum Jodat in neutraler Lösung mit Permanganat kann erfolgreich zur Bestimmung kleinster Jod-Mengen verwendet werden.

Jodid in jodierten Salzen wird gewöhnlich durch Oxydation des Jodids mittels Chlor oder Brom zu Jodat bestimmt. M. Gröger¹⁾ hat gezeigt, daß man mit Permanganat in neutraler Lösung das Jodid zu Jodat oxydieren kann. Die Methode ist für Jodid-Mengen, die mit 0,1 n Thiosulfat-Lösung titrierbar sind, ausgearbeitet worden. Die Nachprüfung der Methode hat ergeben, daß sie sich sehr gut auch zur Bestimmung kleinster Jod-Mengen eignet.

Ausführung der Bestimmung. 10 bis 100 g des Salzes werden in 50 bzw. bis 400 cm³ Wasser gelöst und von wasserunlöslichen Zusätzen (MgO, basische Magnesiumcarbonate, Calciumphosphate) abfiltriert. Die neutrale Lösung wird zum Kochen erhitzt und mit 3 cm³ 0,05 molarer MnSO₄-Lösung und dann mit einem Überschuß, etwa 20 cm³, an 0,1 n KMnO₄-Lösung versetzt, so daß die Lösung stark rot gefärbt bleibt. Der Zusatz an Mangansulfat beschleunigt die Oxydationswirkung des Permanganats und verbessert die Ausfällung an Mangan(III)-hydroxyd. Auch wird die Lösung nicht so stark alkalisch, wie bei der Anwendung von KMnO₄ allein.

Nach 1/2 h ist der Niederschlag gut zusammengeballt. Dann wird der Überschuß an Permanganat bzw. Mangan(III)-salz durch 5 cm³ 10proz. Alkohol in der Wärme reduziert. Man kocht die Hauptmenge des gebildeten Aldehyds aus und filtriert das Mn(OH)₃ ab, wäscht es aus und versetzt das abgekühlte, völlig blanke Filtrat mit 1 bis 2 cm³ 30proz.

¹⁾ Diese Ztschr. 7, 52 [1894].

KJ-Lösung, 1 cm³ Stärkelösung und 20 cm³ 2 n HCl. Das von dem gebildeten Jodat in Freiheit gesetzte Jod wird mit einer frisch eingestellten 0,01 n Thiosulfat-Lösung titriert. Der Umschlag von blau nach farblos ist bei den größeren Flüssigkeitsmengen durch Vergleich mit Wasser und unterlegtem weißen Papier zu beobachten. (1 cm³ 0,01 n Thiosulfat entspricht $126.9 \cdot 6.100000 = 0,2115 \cdot 10^{-3}$ g J).

Wir haben diese analytische Methode benutzt, um die Ursachen des Jod-Schwundes beim Lagern von jodiertem Speisesalz, das rund 5 mg J je kg Salz enthielt, zu verfolgen. Der Jod-Verlust in 6 Monaten war um so größer, je feuchter und unreiner die Atmosphäre war. Die Proben lagerten 1) in einem verschlossenen Glasgefäß, 2) in einem Schreibzimmer, 3) im Physik. Zimmer, 4) im Bodenraum, 5) im Keller, 6) im chemischen Laboratorium, 7) in einem Exsikkator über angefeuchtetem Steinsalz (relative Feuchtigkeit 79%), 8) über Wasser (relative Feuchtigkeit 100%). Die Reihenfolge entspricht steigenden Verlusten an Jod. Über Wasser betrug der Jod-Gehalt nach 6 Monaten nur noch 1,4 mg/kg.

Beim Eindampfen und Trocknen von jodiertem Salz sind Jod-Verluste nachweisbar.

Eingeg. am 1. Dezember 1948. [A 208]

Versammlungsberichte

Gesellschaft für Physiologische Chemie und Physiologentagung

81. August bis 8. September 1949 in Göttingen

Unter den etwa 500 Teilnehmern befanden sich 45 Fachvertreter aus dem Auslande, darunter zum ersten Mal nach dem Kriege auch solche aus Übersee.

Eröffnungssitzung gemeinsam mit den Physiologen

Mittwoch, 31. August

K. FELIX, Frankfurt a. M.: *Funktion und Struktur der Proteine.*
Erscheint demnächst ausführlich in dieser Ztschr.

G. SCHRAMM, Tübingen: *Zur Problematik der Eiweißstruktur.*

Röntgenuntersuchungen an krystallisiertem Eiweiß sowie andere physikalisch-chemische Untersuchungen lassen erkennen, daß bestimmten Eiweißarten eine definierte Struktur zukommt. Grundlage der Strukturermittlung ist aber eine genaue Analyse. Die wenig aussagende Elementaranalyse bereitet auch wegen des wechselnden Wassergehaltes der hochmolekularen Proteine Schwierigkeiten. Man kann aber den Wassergehalt ohne Trocknung nach dem Prinzip der Isotopenverdünnung bestimmen (Rittenberg und Foster). Die Bestimmung der Aminosäuren wird nach den bekannten Methoden, zu denen in der letzten Zeit die Isotopenverdünnung sowie die Verteilungs- und Adsorptionschromatographie gekommen sind, vorgenommen. Vortr. entwickelte mit Primosigh und Braunitzer eine Gruppentrennung der Aminosäuren durch Adsorptionschromatographie, mit der eine sehr genaue Analyse von Eiweißhydrolysaten möglich ist. Als Modellsubstanz wurde das Lactoglobulin untersucht. Die Analysenwerte stimmen mit denen auf andere Weise erhaltenen gut überein. Die bei der Hydrolyse des Proteins sich abspielenden Vorgänge, insbes. die Veränderungen an den Aminosäuren werden durch Verfolgung des zeitlichen Verlaufs der Hydrolyse des Lactoglobulins untersucht. Bei kurzen Hydrolysenzeiten lassen sich Peptide nachweisen, bei zu langer Dauer treten grundsätzliche Fehler durch Zersetzung-Reaktionen auf, die sich bei allen Bestimmungsmethoden ähnlich auswirken, so daß alle Angaben über die Zusammensetzung der Proteine an Aminosäuren mit Vorsicht zu bewerten sind.

H. FRAENKEL-CONRAT, Berkeley: *Der Mechanismus der Avidin-Biotin-Verbindung.*

Vortr. diskutiert einige Methoden wie Acetylierung bei tiefer Temperatur oder Veresterung mit Methanol-HCl, mit denen bestimmte chemische Gruppen (Amino-, Carboxyl-Gruppen) der Eiweißmolekel spezifisch verändert werden können. Konzentrierte Schwefelsäure reagiert bei sehr tiefer Temperatur nur mit den aliphatischen Hydroxyl-Gruppen. Mit anderen, sog. semispezifischen Methoden erfaßt man mehrere funktionelle Gruppen, z. B. mit Jod den Phenol- und Imidazol-Ring. Inaktivierung biologisch aktiver Proteine ist noch kein Beweis für die Blockierung einer funktionellen Gruppe. Hierfür können auch sekundäre Veränderungen der elektrischen Ladung, der Löslichkeit, der räumlichen Gestalt u. a. verantwortlich sein. Wird andererseits durch Acetylierung der meisten Amino-Gruppen die Wirkung eines Proteins nicht verändert,

kann geschlossen werden, daß die Amino-Gruppen an der spezifischen Funktion nicht beteiligt sind. — Mit diesen Methoden und unter diesen Vorbehalten wurde eine Reihe von aktiven Proteinen (Trypsin, Crot toxin, Insulin, Lysozym, Coralbumin, verschiedene Trypsin-hemmende Eiweiße u. a.) untersucht. Avidin, der Antagonist des Biotins, kommt im Eiereiweiß zu etwa 0,05% vor. Seine Bindungsfähigkeit für Biotin bleibt auch erhalten, wenn viele seiner Amino-, Carboxyl-, Phenol-, Imidazol- oder Disulfid-Gruppen chemisch verändert werden. Nur einige der Amino- oder Guanidin-Gruppen scheinen notwendig zu sein. Die Avidin-Biotin-Bindung ist daher höchstwahrscheinlich nicht elektrostatisch. Hitzedenaturierung des Komplexes liefert freies Biotin zurück, es liegt also keine primäre chemische Bindung vor. Als Arbeitshypothese wird eine Diacylimid-Gruppierung im Avidin angenommen, welche mit 3 benachbarten Wasserstoff-Brücken das Biotin fixiert. Einige experimentelle Befunde stützen diese Hypothese.

Aussprache:

Dirschel, Bonn: Wenn die Annahme Scheibes zutrifft, daß im Eiweiß die Aminosäuren nicht peptidartig, sondern nur salzartig gebunden sind, wäre die Frage der Eiweiß-Synthese gelöst: eine Auflösung von Aminosäuren müßte Eiweiß ergeben. (Zu Fraenkel-Conrat): Hinweis auf frühere Arbeiten aus dem Freudenberg'schen Institut über Inaktivierungsversuche an Insulin mit verschiedenen Reagentien. H. H. Weber, Tübingen: In den letzten 10 Jahren gelang es in USA, die analytischen Ergebnisse für freie Carboxyl-Gruppen der Aminodicarbonsäuren beim Ovalbumin zu verdoppeln. Übereinstimmungen zwischen Analysen an Gesamtteilchen und Baustein-Analyse sichert auch gegen die Gefahr, daß bei der Eiweißhydrolyse sich die Bausteine verändern; die nun erreichte Äquivalenz der ionogenen Gruppen des Gesamtteilchens mit den freien, überzähligen Gruppen der trivalenten Aminosäuren stellt ein Argument gegen die Scheibesche Konzeption dar. Wenn das Eiweiß nur ein Dipolaggregat von Aminosäuren wäre, müßte sich durch geeignete pH-Variation eine viel größere Zahl ionogener Gruppen finden lassen. Kühnau, Hamburg: Kann am Aufbau der zur Avidin-Biotin-Bindung notwendigen CO-NH-CO-Bindung Carbaminsäure beteiligt sein? Werle, München: Ist die Avidin-Biotin-Verbindung unter physiologischen Bedingungen spaltbar? Felix, Frankfurt a. M.: Zwischen den Ergebnissen Webers mit der Titration der Carboxyl-Gruppen der Proteine und den neueren amerikanischen Bausteinanalysen hätte eigentlich noch eine Differenz für die Carboxyl-Enden der Peptidketten bleiben müssen. Fraenkel-Conrat: Carbaminsäure-Gruppen sind wahrscheinlich nicht im Avidin (oder in einigen anderen Eiweißen) vorhanden. Sie würden bei pH 3, im Gegensatz zu Avidin, nicht stabil sein. Hingegen ist Diacylimin von pH 2-10 recht stabil, ähnlich wie Avidin. — Biotin kann aus dem Avidin-Biotin-Komplex nur abgespalten werden, wenn das Protein gleichzeitig denaturiert oder hydrolysiert wird. Dazu sind 120° C während 15-30 min erforderlich.

JEAN ROCHE, Paris: *Über die alkalische Phosphatase.*

Durch Dialyse gegen dest. Wasser (30-40 Tage) verliert die alkalische Phosphatase (des Darms) völlig, bzw. fast völlig ihre Aktivität. Reaktivierung gelingt durch Zusatz von zweiwertigen Kationen (Mg, Mn, Zn, Ca, Fe). Das Ausmaß der Reaktivierung hängt ab vom Ausmaß des vorhergehenden Aktivitätsverlustes. Für jedes Ion wird eine optimale Reaktivierungskonz. gefunden, die für Zn sehr gering ist (10^{-6} M ZnSO₄), stärker für die anderen (10^{-3} - 10^{-4} M für MnSO₄) und sehr stark für Mg