Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 51 (1960)

Heft: 1

Artikel: Systematische Untersuchungen über titrimetrische, kolorimetrische und polarimetrische Stärkebestimmungen

Autor: Hadorn, H. / Doevelaar, Fr.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982907

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 12.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

EIDG. GESUNDHEITSAMT * BIBLIOTHEK *

MITTEILUNGEN

AUS DEM GEBIETE DER

LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN

Offizielles Organ der Schweizerischen Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE À BERNE

Organe officiel de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

ABONNEMENT:

Schweiz Fr. 17.— per Jahrgang (Ausland Fr. 22.—) Preis einzelner Hefte Fr. 3.— (Ausland Fr. 4.—)
Suisse fr. 17.— par année (étranger fr. 22.—) Prix des fascicules fr. 3 — (étranger fr. 4.—)

BAND - VOL. 51 1960 HEFT - FASC. 1

Systematische Untersuchungen über titrimetrische, kolorimetrische und polarimetrische Stärkebestimmungen

Von *H. Hadorn* und *Fr. Doevelaar*

(Aus dem Laboratorium VSK, Basel)

Stärke ist ein wichtiger und weit verbreiteter Bestandteil zahlreicher pflanzlicher Lebensmittel. Der zuverlässigen Stärkebestimmung kommt bei der Aufstellung von Bilanzen unserer Nahrung einige Bedeutung zu. Auch in Lebensmitteln, denen Stärke als Bindemittel oder Füllstoff zugesetzt wurde, etwa Fleischkonserven, ist eine genaue Bestimmung des Stärkegehaltes oft nötig oder erwünscht.

In der Praxis wird die Stärke am häufigsten auf polarimetrischem Wege bestimmt. Daneben hat auch die titrimetrische Halbmikromethode nach *von Fellenberg* [1]), die sich besonders für kleine Substanzmengen eignet, eine gewisse Bedeutung erlangt. Auch kolorimetrische Methoden, die entweder auf der Blaufärbung der Stärke mit Jodlösung oder auf der Farbreaktion mit Anthronreagens beruhen, werden empfohlen.

Allen bis heute veröffentlichten Methoden haften gewisse Mängel an, und in gewissen Fällen versagen sie vollständig. Häufig findet man zwischen den nach

verschiedenen Methoden bestimmten Werten beträchtliche Unterschiede. Sogar nach ein und derselben Vorschrift findet man in verschiedenen Laboratorien oft grosse Abweichungen im Stärkegehalt des gleichen Untersuchungsmaterials, was vergleichende Analysen zeigten, die von einzelnen Mitgliedern der Lebensmittelbuch-Kommission durchgeführt wurden. Selbst bei einer grösseren Serie von Parallelbestimmungen und vermeintlich peinlich genauer Befolgung der Arbeitsvorschrift kann es einem Analytiker passieren, dass er unverhältnismässig stark streuende Werte erhält, ohne dafür eine plausible Erklärung zu finden. Es muss daraus geschlossen werden, dass die Methoden entweder zu wenig gründlich durchgearbeitet oder die Arbeitsvorschriften nicht genügend präzis beschrieben sind.

In neuerer Zeit werden im Handel sogenannte Quellstärken «precooked», «pregelatinized starch» zur Fabrikation von Puddingpulvern und anderen Präparaten angeboten. Bei diesen Quellstärken handelt es sich um vorgekochte oder nach speziellen Aufschlussverfahren mehr oder weniger «löslich» gemachte Stärke. In kaltem Wasser quellen diese Stärkesorten sehr stark auf und sind teilweise löslich. Sie eignen sich daher speziell für die Fabrikation von sogenannten Kaltpuddingpulvern, welche bereits nach dem Anrühren in kalter Milch mehr oder weniger feste, z.T. sturzfähige Puddinge liefern.

Produkte, die Quellstärken enthalten, bieten bei der Analyse erhebliche Schwierigkeiten. Die polarimetrische Methode ist in der Regel unbrauchbar. Die stets notwendige Blindprobe zur Ermittlung der Korrektur für andere wasserlösliche optisch aktive Substanzen (Zucker und Dextrine) wird durch lösliche Stärke gestört. In kaltem Wasser lösen sich beträchtliche Mengen dieser Stärke und lassen sich nur schwierig und gelegentlich überhaupt nicht mehr vollständig mit Klärmitteln ausfällen, so dass die polarimetrische Methode versagt. Oft erhält man beim Anrühren mit Wasser einen dicken Kleister, der weder filtriert noch sonstwie aufgearbeitet werden kann.

Es war daher naheliegend, die titrimetrische Stärkebestimmung nach *von Fellenberg* für diesen Zweck heranzuziehen. Eine von uns früher etwas modifizierte Arbeitsweise [2]) wurde überprüft. Dabei stellten wir fest, dass die Methode aus zunächst unabgeklärten Gründen bei gewissen Produkten unzuverlässige, viel zu niedrige Werte liefert.

Im Rahmen dieser Arbeit sollen die gebräuchlichsten Stärkebestimmungsmethoden, die auf ganz verschiedenen Eigenschaften der Stärke basieren, systematisch überprüft und miteinander verglichen werden. Zunächst wurde die von uns seinerzeit übernommene Methode nach *von Fellenberg*, bei welcher die Stärke als Jodstärke ausgefällt und nach gründlichem Auswaschen mit Bichromat-Schwefelsäure oxydiert wird, nochmals überprüft. Die Methode musste in einigen Punkten abgeändert werden, da die ursprüngliche Arbeitsvorschrift verschiedene Möglichkeiten für systematische Fehler in sich barg. Die neue Vorschrift ist auf nahezu alle stärkehaltigen Lebensmittel anwendbar, gleichgültig, ob diese nur geringe Mengen Stärke enthalten oder ob Stärke Hauptbestandteil ist. Auch ver-

halten sich alle Stärkearten gleich, so dass für die Berechnung überall derselbe Faktor verwendet werden kann.

Im Anschluss an die titrimetrische Methode wurde noch eine einfache kolorimetrische Methode, bei welcher in sehr verdünnter Lösung die Blaufärbung der Jodstärke gemessen wird, ausgearbeitet und auf ihre Zuverlässigkeit geprüft.

Schliesslich haben wir die polarimetrische Methode nach *Baumann* und *Grossfeld* [3]), die auf der optischen Aktivität der Stärkelösung in verdünnter Salzsäure beruht und allgemein anerkannt ist, eingehend überprüft. Die Methode wurde nur geringfügig modifiziert, aber die Arbeitsvorschrift besser standardisiert, so dass die Methode nun sehr genau reproduzierbare Resultate liefert. Sie ist hauptsächlich auf stärkereiche Produkte anwendbar. Der von *Grossfeld* angegebene Faktor für die Berechnung musste allerdings korrigiert werden; er ist nicht für alle Stärkearten gleich.

Alle 3 Methoden sind an zahlreichen Lebensmitteln ausprobiert und die Resultate miteinander verglichen worden.

I. Titrimetrische Stärkebestimmung nach *von Fellenberg*

1. Unzulänglichkeiten der bisherigen Methode

Die Stärkebestimmungsmethode nach *von Fellenberg* [1]) beruht auf dem Prinzip, dass die Stärke mittels heisser Calciumchloridlösung aus dem Untersuchungsmaterial herausgelöst wird, wonach man die Lösung verdünnt und filtriert. In einem aliquoten Teil des Filtrates wird die Stärke als Jodstärke gefällt. Die daraus isolierte, gereinigte Stärke wird mit Kaliumbichromat und konzentrierter Schwefelsäure oxydiert und der Stärkegehalt aus dem titrimetrisch bestimmten Bichromatverbrauch berechnet.

Die Methode liefert sowohl in der Originalfassung als auch in der von *Hadorn* und *Biefer* [2]) modifizierten Form gelegentlich stark schwankende, meist zu niedrige Resultate. Auch waren die zur Berechnung nötigen, empirisch ermittelten Faktoren für alle Stärkearten verschieden. Die von uns seinerzeit publizierte modifizierte Arbeitsvorschrift ist zweifellos noch zu wenig präzisiert. Durch zahlreiche systematische Modellversuche wurde gefunden, dass die Stärkeausbeute durch verschiedene Umstände stark beeinflusst wird. Wir beobachteten beispielsweise, dass man mit einer einmal angesetzten «50%igen» Calciumchloridlösung meistens gut reproduzierbare Resultate erhält, während unmittelbar darauf mit einer neuen Lösung ganz andere Werte gefunden wurden. Die Ursache dieses etwas sonderbaren Befundes liess sich aufklären. Das «wasserfreie» Calciumchlorid des Handels enthält stets beträchtliche, aber stark schwankende Mengen Wasser, so dass die Konzentration der vorschriftsgemäss zubereiteten Calciumchloridlösung zwischen 30 und 50 % schwanken kann. Neben der Konzentration der Lösung spielt auch die Kochzeit eine gewisse Rolle.

Von grösster Wichtigkeit sind jedoch pH-Wert und Pufferung der Calciumchloridlösung. In neutraler oder schwach alkalischer Lösung quillt die Stärke zwar auf und geht scheinbar in Lösung, aber oft erhält man etwas schleimige, schwer filtrierbare Lösungen. Beim Filtrieren bleibt ein Teil der Stärke auf dem Filter zurück, so dass die Resultate viel zu niedrig ausfallen. In schwach saurer Lösung löst sich die Stärke viel besser, und die Flüssigkeit filtriert gut, worauf schon *Mannich* und *Lenz* [4]) hingewiesen haben. Es besteht aber die Gefahr, dass in saurer Lösung die Stärke teilweise zu Dextrinen abgebaut wird, welche durch Jodlösung nicht mehr fällbar sind. Es ist daher nötig, die Calciumchloridlösung in genau definierter Weise zu puffern. Bereits *Schwimmer* und Mitarbeiter [5]) benützten eine Calciumchloridlösung, die mit 0,8%iger Essigsäure auf pH = 6,1 eingestellt war. Die Pufferwirkung ist jedoch bei dieser Arbeitsweise mangelhaft. Als optimal erwies sich nach unseren Untersuchungen eine 35- bis 40%ige Calciumchloridlösung, die mit einer Pufferlösung von pH = 6,0 versetzt war.

Zur Abklärung all dieser Punkte wurde in den folgenden Abschnitten zahlreiche systematische Versuchsserien durchgeführt, die schliesslich zu einer brauchbaren und zuverlässigen Methode führten.

Vorerst wurden Oxydationsversuche mit gereinigten nativen Stärken angestellt, um zu prüfen, ob die Bichromatoxydation streng nach den stöchiometrischen Gleichungen erfolge, was nicht genau der Fall ist.

In weiteren Versuchen wurde die Stärke nur in kochendem dest. Wasser gelöst, um Abbaureaktionen, verursacht durch die Reagenzien, möglichst zu vermeiden. An diesen Lösungen wurden Filtrierbarkeit und die Fällbarkeit der Stärke durch Jodlösung studiert. Ueberraschenderweise verhielten sich nun alle Stärkearten praktisch gleich. Durch Jodlösung ist die Stärke aus schonend hergestellten wässerigen Lösungen praktisch vollständig als Jodstärke fällbar.

Da man aber bei den meisten Lebensmitteln durch einfaches Lösen der Stärke in destilliertem Wasser, sei es bei Siedetemperatur oder durch eine Autoklavbehandlung, zu keinen befriedigenden Resultaten gelangt, wurde zum Lösen wiederum die *von Fellenberg*-Methode mit Calciumchloridlösung angewendet. Obschon in neueren Publikationen verschiedene andere Lösungsmittel, vor allem Perchlorsäure empfohlen werden, hat sich nach unseren bisherigen Erfahrungen Calciumchloridlösung gut bewährt. In systematischen Versuchen wurden Einfluss von Kochzeit, pH-Wert und Calciumchloridkonzentration studiert.

Bei den meisten Lebensmitteln ist vor dem eigentlichen Lösen der Stärke eine Vorbehandlung nötig, um störende Stoffe, wie Lipoide und Proteine, zu entfernen. Besonders Backwaren, wie Brot, Zwieback und Paniermehl, bieten oft Schwierigkeiten, indem die Stärke nur unvollständig aus dem verkleisterten Material herausgelöst wird. Durch zahlreiche Versuche wurde die beste und zweckmässigste Vorbehandlung gesucht.

In den nächsten Abschnitten folgen nun die notwendigen Beleganalysen, die schliesslich zu der endgültigen Arbeitsvorschrift führten, wie sie im Abschnitt

Methodik angegeben ist. Durch vergleichende Analysen mit anderen Methoden wird die Brauchbarkeit der abgeänderten *von Fellenberg*-Methode bewiesen.

2. Direkte Bichromatoxydation von nativer Stärke

Zunächst sollte festgestellt werden, welche Faktoren reine, native Stärke bei der direkten Oxydation mit Bichromat-Schwefelsäure liefert. Unter der Annahme, dass Stärke die Bruttoformel $(C_5H_{10}O_6)n$ besitzt und bei der Oxydation vollständig zu Kohlensäure und Wasser verbrennt, entspricht 1 ml 0,1-n Bichromat theoretisch 0,675 mg Stärke.

Handelsübliche Stärken haben wir zur weiteren Reinigung einmal mit 3%iger Salzsäure, dann mehrmals gründlich mit destilliertem Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Den Feuchtigkeitsgehalt ermittelten wir entweder durch

Tabelle 1

Direkte Bichromatoxydation von nativer Stärke

Stärkeart	Einwaage mg	Trocken-substanz *) %	Verbrauch ml 0,1-n $K_2Cr_2O_7$	Berech-neter Faktor	Mittlerer Faktor	Stärke-ausbeute ber. mit theoret. Faktor = 0,675 %
Weizenstärke	10,67	86,37	13,33	0,691	0,689	97,6
	10,59	»	13,31	0,687		98,2
	10,06	»	12,68	0,685		98,5
	11,64	»	14,63	0,687		98,2
	11,77	»	14,66	0,693		97,3
	11,59	»	14,57	0,687		98,3
	12,24	»	15,31	0,691		97,7
	12,17	»	15,18	0,692		97,5
Maisstärke I	11,83	86,56	14,89	0,687	0,688	98,2
	11,93	»	14,98	0,689		97,9
Maisstärke II	11,74	86,66	14,90	0,683	0,690	98,9
	12,50	»	15,68	0,691		97,7
	11,95	»	14,88	0,696		97,0
Kartoffelstärke	11,18	83,04	13,35	0,695	0,692	97,1
	10,99	»	13,24	0,689		97,9
Marantastärke	10,78	84,86	13,34	0,686	0,688	98,4
	11,16	»	13,75	0,689		98,0
Manihotstärke (Tapiokastärke)	12,26	85,86	15,23	0,691	0,690	97,6
	11,47	»	14,31	0,688		98,1

*) Mittelwerte aus mehreren Bestimmungen

Trocknen bei 105° C bis zur Gewichtskonstanz, wozu 4 bis 7 Stunden erforderlich sind, oder durch 1½ Stunden langes Trocknen bei 130° C.

Zur Oxydation wurden 10 bis 12 mg Stärke auf ± 0,05 mg genau abgewogen und in einer mit Chromschwefelsäure gereinigten Glasschale mit 10 ml 0,2-n Kaliumbichromat und 20 ml konz. Schwefelsäure versetzt. Es wurde weiter verfahren, wie im Abschnitt Methodik beschrieben. Die Resultate für 6 verschiedene Stärken sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Der Oxydationsfaktor beträgt im Mittel 0,689, die mittlere quadratische Abweichung 0,0038 (= ± 0,55 %). Die relative Standardabweichung von 0,55 % entspricht den Analysenfehlern, die auf ungenaues Einwägen und Abmessen der Masslösungen und eventuell auf Schwankungen beim Oxydationsvorgang zurückzuführen sind. Die Reproduzierbarkeit der Werte ist somit gut.

Die Stärkeausbeute, berechnet mit dem theoretischen Faktor, schwankt zwischen 97,1 und 98,9 % und ist im Mittel 98,0 %. Es gibt verschiedene Erklärungen dafür, dass man nicht den theoretischen Wert erreicht. Es war vorerst zu prüfen, ob die Bichromatoxydation unter den gegebenen Bedingungen quantitativ nach der stöchiometrischen Gleichung verläuft, d.h. nur Kohlensäure und Wasser liefert. Wir haben zu diesem Zweck Modellversuche mit reiner Saccharose durchgeführt. Wie die Zahlen in Tabelle 2 zeigen, findet man Ausbeuten von 98,6 bis 98,9 % des theoretischen Wertes (Mittelwert 98,8 %).

Tabelle 2

Bichromatoxydation von Saccharose

Einwaage mg Saccharose	Verbrauch ml 0,1-n $K_2Cr_2O_7$	Ausbeute %
10,57	14,66	98,9
12,00	16,59	98,6

Es scheint demnach, dass bereits die Oxydation nicht ganz quantitativ stöchiometrisch verläuft.

Native Stärke, wie sie aus pflanzlichem Material gewonnen wird, ist keine einheitliche «chemisch reine» Substanz. Im Stärkekorn sind Fettsäuren, stickstoffhaltige Verbindungen, Phosphorsäure und andere mineralische Bestandteile nachweisbar. Sie werden bei den verschiedenen Gewinnungsverfahren der Stärkemehle in wechselnden Mengen entfernt. Adsorptiv oder chemisch gebunden bleiben Spuren davon im Stärkekorn zurück. Auch das Trocknen von Stärke ist etwas problematisch, weil der vollständige Entzug des als Hydrat oder adsorptiv gebundenen Wassers nur schwer gelingt und man nie sicher ist, ob die letzten Spuren auch tatsächlich ausgetrieben sind. Bei der 130°-Trocknungsmethode soll nach *Wuhrmann* und *Högl* [6]) eine Fehlergrenze von ± 0,15 % anzunehmen sein und der wirkliche Wassergehalt weitgehend erreicht werden, während die 105°-Methode Schwankungen bis zu 0,33 % ergeben kann.

3. Fällung der Jodstärke aus reiner wässeriger Lösung

Es sollte nun abgeklärt werden, wie gross der als Jodstärke fällbare Anteil in wässeriger Lösung ist.

Ca. 50 mg Weizenstärke wurden genau abgewogen, in dest. Wasser während 5 Minuten gekocht, die Lösung auf 50 ml verdünnt und je 10 ml der unfiltrierten Lösung, enthaltend ca. 10 mg Stärke, zu den verschiedenen Versuchen verwendet.

10 ml wurden auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft und dann direkt oxydiert. In weiteren 10 ml wurde nach Zusatz von 0,35 ml 35%iger Calciumchloridlösung (eine Menge, die ungefähr der Salzkonzentration bei der Fällung nach der Methode *von Fellenberg* entspricht) wie üblich mit 1 ml 0,1-n Jodlösung die Jodstärke gefällt, mit Alkohol ausgewaschen und oxydiert. Die Resultate sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3

Bestimmung des als Jodstärke fällbaren Anteils

Einwaage mg	Trockensubstanz %	Verfahren	0,1n $K_2Cr_2O_7$ Verbrauch ml	Berechneter Faktor	Stärke ausbeute %	Differenz %
49,88	86,37	direkt oxydiert	12,45	0,692	97,5	0,4
49,88	86,37	nach Jodfällung oxydiert	12,39	0,695	97,1	
50,81	86,37	direkt oxydiert	12,77	0,687[5]	98,2	2,3
50,81	86,37	nach Jodfällung oxydiert	12,47	0,704	95,9	

Die Stärkeausbeute liegt nach der Fällung als Jodstärke und vorschriftsgemässem Auswaschen um 0,4 % bzw. 2,3 % niedriger als bei der direkten Oxydation. Es muss somit auf einen geringen nicht fällbaren Anteil oder auf Stärkeverluste beim Auswaschen geschlossen werden.

Bei diesen Stärkeausbeuten werden neben der gelösten Stärke auch die in den meisten Stärkelösungen wahrnehmbaren ungelösten Schwebeteilchen (Verunreinigungen) miterfasst. Bei allen späteren Versuchen sind diese abfiltriert worden.

4. Fällung der Jodstärke nach Autoklavbehandlung

Durch Kochen in destilliertem Wasser lässt sich die Stärke aus den meisten Lebensmitteln nicht befriedigend herauslösen. Es wurde daher in Anlehnung an Arbeiten anderer Autoren versucht, den wässerigen Auszug im Autoklaven bei erhöhter Temperatur herzustellen.

100 mg Weizenstärke wurden im Reagensglas in 10 ml Wasser suspendiert, kurz aufgekocht bis zur Verkleisterung und anschliessend während 10 Minuten im Autoklaven auf 140° erhitzt (3 Atm.). Die abgekühlte Lösung wurde in einem Messkolben auf 100 ml verdünnt und aliquote Teile (je 10 ml, enthaltend ca.

10 mg Stärke) zu den Fällungs- und Oxydationsversuchen verwendet. Um das Ausflocken der Jodstärke zu erleichtern, wurden vor der Fällung 0,5 ml gesättigte Natriumsulfatlösung zugesetzt. Zum Aussalzen der Jodstärke ist Natriumsulfat besonders günstig, weil es bei der Bichromatoxydation nicht stört.

In der Tabelle 4 sind die Stärkeausbeuten (berechnet mit dem theoretischen Faktor) angegeben, die wir bei direkter Oxydation und nach Fällung als Jodstärke gefunden haben.

Auch bei dieser Versuchsserie ergab sich eindeutig, dass man nach der Ausfällung der Jodstärke etwas niedrigere Resultate erhält als bei der direkten Oxydation. Ca. 2 % der Stärke werden nach der Fällung als Jodstärke nicht mehr erfasst. Die Resultate mit filtrierter und unfiltrierter Stärkelösung in Tabelle 5 zeigen auch, dass man nach dem Filtrieren noch etwas niedrigere Werte findet. Die von Auge schon wahrnehmbaren Schwebeteilchen in der Stärkelösung bleiben auf dem Filter zurück, und möglicherweise wird auch ein Teil des stark verzweigten Amylopektins vom Filterpapier zurückgehalten.

Die Autoklavbehandlung liefert bei reiner Stärke ganz gute Resultate. Sie hat jedoch gewisse Nachteile. Während des Erhitzens im Autoklaven kann die Lösung mit dem suspendierten Untersuchungsmaterial nicht gerührt werden.

Tabelle 4

Stärkeausbeute nach Autoklav-Behandlung
(10 Minuten bei 140° C mit dest. Wasser)

Nr.	Bedingungen	Stärkeausbeute in % ber. mit Faktor 0,675	
		Einzelwerte	Mittelwert
	Unfiltrierte Stärkelösungen		
1	direkte Oxydation ohne Fällung	99,0	98,85
2	do.	98,7	
3	nach Fällung der Jodstärke mit 0,5 ml gesättigtem Na_2SO_4 und 1,0 ml 0,1-n J	97,3	97,85
4	do.	98,4	
	Filtrierte Stärkelösungen (Faltenfilter Schleicher & Schuell, Nr. 588, Ø 12,5 cm)		
5	direkte Oxydation ohne Zusatz von Na_2SO_4	98,2	98,0
6	do.	97,9	
7	direkte Oxydation mit Zusatz von 0,5 ml gesättigtem Na_2SO_4	98,1	
8	do.	97,1	
9	nach Fällung der Jodstärke mit 0,5 ml gesättigtem Na_2SO_4 und 1 ml 0,1-n J	96,1	96,0
10	do.	96,1	
11	do.	95,7	
12	do.	95,9	

Material mit viel unlöslichen Stoffen, wie beispielsweise Vollkornbrot, setzt sich auf den Boden des Reagensglases ab, wodurch das Herauslösen der Stärke verzögert oder teilweise verhindert wird. Auch sind die Lösungen oft sehr schlecht filtrierbar.

Bei Paniermehl erhielten wir nach dieser Autoklavbehandlung ganz unbrauchbare, viel zu niedrige Resultate. Kein einziger Wert lag über 53 %, anstatt der erwarteten 60 bis 61 %. Der Autoklavaufschluss mit destilliertem Wasser versagte hier hauptsächlich deshalb, weil bei dieser Behandlung eine deutlich saure Lösung entsteht und als Folge davon die Stärke teilweise zu niedermolekularen, mit Jod nicht mehr fällbaren Dextrinen abgebaut wird. Paniermehl ergab trotz gründlicher Vorbehandlung mit 60%igem Alkohol nach dem Aufschluss eine deutlich saure Lösung mit pH-Wert von 4,3. Im Mehl sind verschiedene organische Phosphorverbindungen enthalten, die sich durch die Vorbehandlung mit 60%igem Alkohol offenbar nicht restlos entfernen lassen. Bei der Autoklavbehandlung entstehen daraus saure Spaltprodukte, die den Stärkeabbau bewirken.

Versuche mit gepufferten Lösungen (pH = 7,0) haben bei der Autoklavbehandlung nicht befriedigt, da durchwegs sehr schlecht filtrierbare Lösungen resultierten. Die Autoklavmethode wurde daher wieder verlassen.

5. Filtrierbarkeit der Stärkelösungen und ihr Einfluss auf die Ausbeute

Bei verschiedenen Versuchen mit Backwaren hatte sich gezeigt, dass die Stärkeausbeute um so niedriger war, je schlechter die Stärkelösung filtrierte. Reine Stärkelösungen dagegen filtrierten meistens gut. Unmittelbar nach dem Kochen in Calciumchloridlösung erscheint die Stärkelösung meistens völlig klar. Sobald sie jedoch auf 50 ml verdünnt wird, tritt je nach Stärkeart eine mehr oder weniger deutliche Opaleszenz auf, wobei oft noch kleine Schwebeteilchen von blossem Auge wahrnehmbar sind. Beim Filtrieren werden diese Teilchen entfernt und sind somit ein Grund für die etwas niedrigeren Ausbeuten in filtrierten Lösungen. Durch Zentrifugieren lassen sich diese Teilchen meistens nicht oder nur unvollständig beseitigen. Diese Schwebeteilchen gehören zweifellos zu den natürlichen Bestandteilen des pflanzlichen Ausgangsmaterials. Ob sie jedoch zur «reinen Stärke» gerechnet werden dürfen oder ob sie infolge ungenügender Reinigung im Material zurückgeblieben sind, ist schwierig zu entscheiden. Die Frage erlangt einiges Gewicht bei der Bestimmung der Faktoren für die reinen Stärkearten. Wir haben die endgültigen Faktoren alle nach Filtration, also nach Entfernung dieser Schwebeteilchen bestimmt, weil in der Praxis bei fast allen Untersuchungsmaterialien beträchtliche Mengen unlöslicher Stoffe vorhanden sind und folglich die Stärkelösungen filtriert werden müssen.

Ueber die Ausbeute an fällbarer Jodstärke in unfiltrierter und filtrierter Lösung von Weizenstärke geben die Versuche in Tabelle 5 Aufschluss.

Neben den Mittelwerten der Ausbeuten sind ebenfalls die mittleren quadratischen Abweichungen (s) für filtrierte und unfiltrierte Lösungen angegeben. In den filtrierten Lösungen findet man im Mittel 2,2 % weniger Stärke als in unfiltrierten Lösungen. Dieser Unterschied ist statistisch mit mehr als 99 % Wahrscheinlichkeit gesichert.

Tabelle 5

Ausbeute und mittlere quadratische Abweichung aus unfiltrierter und filtrierter Lösung von Weizenstärke

	Anzahl Versuche N	Ausbeute in % Mittelwerte	Mittlere quadrat. Abweichung (s)
Unfiltrierte Lösung	6	95,9	± 1,50
Filtrierte Lösung	16	93,7	± 1,31

Diese Resultate wurden alle nach 5 Minuten langem Kochen mit 35%iger Calciumchloridlösung (pH = 6,0) erhalten. Als Filter benützten wir Faltenfilter Schleicher & Schuell Nr. 588 ⌀ 12,5 cm. Bei den späteren Versuchen verwendeten wir immer 40%ige Calciumchloridlösung (pH = 6,0) und filtrierten durch die grobporigeren Schwarzbandfilter Schleicher & Schuell Nr. 589 ⌀ 9 cm. Auf diese Weise fanden wir höhere Ausbeuten, wie aus einer grossen Anzahl von Versuchen in Tabelle 8 hervorgeht. Vom Faltenfilter werden somit merkliche Mengen kolloidaler Stärke zurückgehalten, während die Lösung ohne nennenswerte Verluste an gelöster Stärke durch ein Schwarzbandfilter läuft. Auf die Bedeutung des Filters beim Filtrieren von Stärkelösungen hat bereits *Nielsen* [7]) hingewiesen. Nach seinen Versuchen kann Whatman-Filter Nr. 1 gut zum Filtrieren von Stärkelösungen verwendet werden, während das dichtere Whatman-Filter Nr. 2 über 20 % der in Lösung befindlichen Stärke zurückhält.

Bei Materialien, aus denen sich die Stärke schwer herauslösen lässt, beispielsweise Backwaren oder Paniermehl, ist während der Filtration meist ein langsames Verstopfen der Filterporen zu beobachten. Dabei enthalten die ersten Fraktionen des Filtrates beträchtlich mehr Stärke als der letzte, nur sehr langsam durchtropfende Anteil. Dieser Befund wird durch folgendes Beispiel an Paniermehl veranschaulicht, wobei noch ein Faltenfilter S & S 588, ⌀ 12,5 cm, verwendet wurde:

im Zentrifugat, nicht filtriert	59,7 % Stärke
in den ersten 20 ml Filtrat	57,9 % Stärke
in den nächsten 10 ml Filtrat	54,6 % Stärke

Es ist demnach wichtig, das die Filtration gleichmässig und rasch verläuft. Die Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials und die Aufschlussbedingungen müssen unbedingt so gewählt werden, dass man leicht filtrierbare Lösungen erhält (vgl. Abschnitt 10). Bei Untersuchungsmaterial mit viel unlöslichen Bestandteilen erweist sich ein vorheriges Zentrifugieren oft vorteilhaft.

6. Einfluss der Calciumchloridkonzentration und des pH-Wertes

Die Stärke soll beim Aufschluss so vollständig wie möglich aus dem Untersuchungsmaterial gelöst und in eine gut filtrierbare Form gebracht werden. Ein Abbau zu dextrinartigen Produkten muss jedoch vermieden werden.

Der Lösungsprozess in kochenden Calciumchloridlösungen (Temperaturen von 115 bis 130° C) verändert weitgehend die Struktur der Stärke. Das Stärkekorn verquillt zunächst und geht kolloidal in Lösung. Haftpunkte zwischen den stark verzweigten hochpolymeren Amylopektinmolekeln müssen gelöst werden, damit die Stärke von einem grobporigen Filter nicht in nennenswerten Mengen zurückgehalten wird. Mit diesem Lösungsvorgang ist vermutlich bereits ein geringer Stärkeabbau verbunden. Dieser Abbau darf aber nicht weiter gehen als zu Bruchstücken, die durch Jodlösung noch fällbar sind.

Je konzentrierter die Calciumchloridlösung, um so mehr wird der kolloidale Lösungsprozess, verbunden mit teilweisem Stärkeabbau, gefördert. Dieser Effekt dürfte zur Hauptsache auf die höhere Siedetemperatur der konzentrierteren Calciumchloridlösung zurückzuführen sein. Beim Kochen im Reagensglas unter ständigem Rühren mit einem Thermometer haben wir für nachstehende Calciumchlorid-Konzentrationen die folgenden Siedetemperaturen abgelesen:

35%ig: 114 — 116° C
40%ig: 120 — 121° C
50%ig: 131 — 132° C

Neben der Konzentration scheint aber auch der pH-Wert der Lösung eine wichtige Rolle zu spielen. Wir haben beobachtet, dass gelegentliche Schwankungen der Resultate, die man nach der früher von uns empfohlenen *von Fellenberg*-Methode auftraten, hauptsächlich auf Unterschiede in der Konzentration und des pH-Wertes der Calciumchloridlösung zurückzuführen sind. In ungepufferter Lösung können, wie erwähnt, durch Abbau von organischen Schwefel- und Phosphorverbindungen (Phosphatide) und anhaftenden Fettbestandteilen, die in allen Getreidearten vorhanden sind, schwach saure Hydrolysenprodukte entstehen. Bei niedrigen pH-Werten erfolgt der Stärkeabbau stark beschleunigt. Durch Zusatz einer geeigneten Pufferlösung zur Calciumchloridlösung kann eine störende Veränderung des pH-Wertes während des Aufschlusses weitgehend vermieden werden.

Das ganze Problem der Aufschlussbedingungen ist recht kompliziert und hat uns öfters zu Trugschlüssen verleitet, weil sich zwei verschiedene Fehlermöglichkeiten überlagern. Bei sehr schonenden Aufschlussbedingungen (niedrige Calciumchloridkonzentration, neutrale Lösung) wird die Stärke unvollständig aus dem Untersuchungsmaterial gelöst, und es entstehen sehr schlecht filtrierbare Lösungen, was zu niedrige Werte verursacht. Bei einer intensiveren Behandlung (höhere Calciumchloridkonzentration, schwach saure Lösung) wird die Stärke zwar sehr gut gelöst und in leicht filtrierbare Form gebracht, ein Teil der Stärke wird aber dabei abgebaut und ist mit Jodlösung nicht mehr fällbar, was wiederum Verluste zur Folge hat. Es gilt nun also die optimalen Aufschlussbedingungen festzulegen, bei denen die Stärke vollständig in Lösung geht, ein zu weitgehender Abbau aber möglichst vermieden wird. Selbstverständlich sollen die Bedingungen sowie die erzielten Resultate gut reproduzierbar sein.

Als Pufferlösungen haben wir 0,5-m Essigsäure-Acetatpuffer mit definierten pH-Werten nach *Walpole* [8]) verwendet. In diesen Pufferlösungen wurde reinstes kristallisiertes Calciumchlorid ($CaCl_2 \cdot 6H_2O$) gelöst und durch Zusatz von Wasser die gewünschte Konzentration (25—50 % $CaCl_2$) eingestellt. Der pH-Wert derartiger Calciumchloridlösungen lässt sich wegen der hohen Salzkonzentration mit der Glaselektrode nicht kontrollieren (Salzfehler). Alle pH-Angaben der folgenden Abschnitte beziehen sich auf die reinen Pufferlösungen, denen dann reinstes Calciumchlorid zugesetzt wurde. Versuche mit einer 5fach verdünnten Pufferlösung vom pH = 5,0 haben ergeben, dass die Pufferung ungenügend war. Besonders bei Backwaren, wie z.B. Paniermehl, das bereits nach dem Aufschluss mit destilliertem Wasser im Autoklaven eine deutlich saure Reaktion aufwies (pH = 4,3), ist eine unverdünnte Pufferlösung erforderlich.

In gepuffertem neutralem Milieu (pH = 7,0) lässt sich die Stärke nur mangelhaft aus pflanzlichem Material oder gebackenen Waren herauslösen, und man erhält, wie bereits erwähnt, stets schlecht filtrierbare Lösungen. In schwach saurem Milieu dagegen (Puffer pH = 4,0) ist ein deutlicher Stärkeabbau festzustellen. Der Anteil an fällbarer Jodstärke sinkt, und in der Lösung geben sich die entstandenen Dextrine deutlich durch die rotbraune Jodfärbung zu erkennen. Eine Pufferlösung mit pH = 6,0 erwies sich als optimal. Neben dem pH-Wert ist auch die Calciumchloridkonzentration und damit die Siedetemperatur der Lösung von Bedeutung.

In der Tabelle 6 sind einige Versuche mit reiner Weizenstärke in gepufferter Calciumchloridlösung verschiedener Konzentration und pH-Werten des Puffers von 5,0 und 6,0 angegeben. Die Kochzeit betrug durchwegs 5 Minuten. Die Lösungen wurden in gleicher Weise aufgearbeitet, wie dies im Abschnitt «Methodik» beschrieben wird.

Bei pH = 5,0 sind alle Stärkeausbeuten zu niedrig. Mit 40%iger Calciumchloridlösung ist bei pH = 5,0 deutlich ein Stärkeabbau feststellbar. Nach dem Fällen und Auszentrifugieren der Jodstärke zeigte die überstehende Lösung die für Dextrine charakteristische rötliche Färbung. Mit 35%iger Calciumchlorid-

Tabelle 6

Stärkeausbeute bei verschiedenen Calciumchloridkonzentrationen und verschiedenen pH-Werten

Weizenstärke mit 86,55 % Trockensubstanz. Kochzeit je 5 Minuten

Einwaage mg	pH-Wert	Konzentration der $CaCl_2$-Lösung %	Filtration	Verbrauch ml 0,1-n $K_2Cr_2O_7$	Stärkeausbeute ber. mit theoret. Faktor = 0,675 %
52,67	5,0	40	gut	11,92	88,2
50,85	5,0	35	gut	12,10	92,8
51,55	5,0	35	gut	12,17	92,1
51,02	5,0	25	schlechter	11,84	90,5
51,51	6,0	50	gut	11,89	89,8
52,09	6,0	40	gut	12,89	96,5
53,13	6,0	35	gut	13,24	97,2
51,59	6,0	30	gut	12,85	97,1

lösung findet man etwas höhere Ausbeuten. In 25%iger Lösung scheint die Stärke ungenügend gelöst zu sein. Die Filtration verlief weniger gut, und ein Teil der Stärke blieb vermutlich auf dem Filter zurück.

Bei pH = 6,0 erfolgt in 30 – 40%iger Calciumchloridlösung (Siedepunkt 110 bis 121° C) kein nennenswerter Abbau. Die Lösungen filtrieren gut, und die Resultate sind reproduzierbar. In 50%iger Lösung (Siedepunkt 132° C) ist ein schwacher Abbau feststellbar.

Die optimalen Bedingungen, bei denen reine Stärke gut in Lösung geht, ohne dass ein merklicher Abbau erfolgt, sind in 35 bis 40%iger Calciumchloridlösung gepuffert auf pH = 6,0 und bei einer Kochzeit von 5 Minuten gegeben.

Weil der Aufschluss bei gebackenen Produkten schwieriger gelingt als bei reinen Stärkemehlen, wurde eine 40%ige Calciumchloridlösung als die günstigste Konzentration für alle Zwecke gewählt.

7. Einfluss der Kochzeit

Der Einfluss der Kochzeit auf die Stärkeausbeute wurde an Weizenstärke mit 40%iger Calciumchloridlösung (Puffer pH = 6,0) studiert, wobei die Kochzeit zwischen einer und 15 Minuten variiert wurde. Aus den Resultaten der Tabelle 7 geht eindeutig hervor, dass unter diesen Bedingungen die Kochzeit ohne nennenswerten Einfluss auf das Resultat ist. Ob man die Stärke während 5 oder 15 Minuten kocht, ist gleichgültig, ein Abbau zu niedermolekularen, nicht als Jodstärke fällbaren Verbindungen findet nicht statt. In der Regel genügen 5 Minuten. Bei gewissen Produkten, die eine Vorbehandlung nötig haben, wie z.B. Backwaren, wo die Stärke verkleistert und teilweise eingeschlossen ist, muss auf

Grund später durchgeführter Versuche etwas länger gekocht werden, damit die Stärke restlos aus dem Untersuchungsmaterial herausgelöst wird. Produkte mit vorgekochter Stärke (Quellstärke) erfordern ebenfalls eine längere Kochzeit. Die Siedetemperatur im Reagensglas soll mindestens 5 Minuten 120 bis 121° C betragen, bei Backwaren und Produkten mit Quellstärke mindestens 10 Minuten.

Tabelle 7

Einfluss der Kochzeit auf die Ausbeute von Weizenstärke

(Trockensubstanz = 86,55 %)
gekocht mit 40%iger $CaCl_2$-Lösung, pH = 6,0

Einwaage	Kochzeit Minuten	Verbrauch 0,1-n $K_2Cr_2O_7$ ml	Stärkeausbeute titrimetrisch ber. mit theoret. Faktor 0,675	Stärkeausbeute kolorimetrisch
53,72	1	13,16	95,5	100,2
54,80	5	13,61	96,8	100,8
52,13	5	13,03	96,8	99,9
56,03	10	13,90	96,7	101,0
52,54	15	12,95	96,1	101,4

8. Faktoren für verschiedene Stärkearten nach dem modifizierten Verfahren nach von Fellenberg

Nachdem die optimalen Versuchsbedingungen ermittelt worden waren, haben wir die Faktoren für verschiedene Stärkesorten nach der im Abschnitt Methodik beschriebenen endgültigen Vorschrift ermittelt. Die mikroskopisch reinen Handelsstärken wurden vor der Untersuchung zur weiteren Reinigung mit 3%iger Salzsäure und anschliessend gründlich mit destilliertem Wasser gewaschen.

50 bis 60 mg lufttrockene Stärke wurden genau abgewogen und ohne Vorbehandlung mit 5 ml 40%iger Calciumchloridlösung (pH = 6,0) gekocht. Bei der endgültigen Standardvorschrift wurde die Lösung im Reagensglas während des Kochens mittels eines Stabthermometers gerührt, die Temperatur kontrolliert und die Siedetemperatur von 121° C (entsprechend einer 40%igen Calciumchloridlösung) während 5 Minuten eingehalten. Die Lösung wurde noch warm in einen 50 ml-Messkolben übergeführt, auf Zimmertemperatur abgekühlt, mit 2,5 ml n-Salzsäure versetzt, zur Marke aufgefüllt und filtriert. Der Salzsäurezusatz erleichtert das Filtrieren. Als Filter benützten wir Schwarzbandfilter Schleicher & Schuell Nr. 589[1] ⌀ 9 cm, im Gegensatz zu den früheren Versuchen, wo qualitative Faltenfilter benutzt wurden. Die Stärkeausbeuten sind nach der endgültigen Standardvorschrift, wie bereits erwähnt, durchwegs etwas höher als bei den früheren Versuchen (in Tabelle 5).

Die Faktoren für die verschiedenen Stärkearten sind in Tabelle 8 zusammengestellt. Man erkennt, dass sie für die meisten Stärkearten praktisch gleich sind. Die Ausbeute an fällbarer Jodstärke beträgt bei den gebräuchlichsten Stärkearten, wie Weizen-, Mais-, Kartoffel-, Leguminosen- und Reisstärke 97 bis 98 %. Dies entspricht ziemlich genau der Ausbeute, die wir bei der direkten Bichromatoxydation der nativen Stärke in Tabelle 1 gefunden haben. Mit andern Worten: Unter den angegebenen Bedingungen ist die Stärke quantitativ als Jodstärke fällbar. Bei einigen weniger gebräuchlichen Stärkearten, wie Manihot- und Milostärken, fanden wir etwas niedrigere Ausbeuten. Vermutlich waren aber diese aus ziemlich verunreinigten technischen Produkten gewonnenen Stärken noch nicht ganz rein. In der Praxis, wenn die verwendete Stärkeart nicht bekannt ist, kann man mit einem mittleren Faktor von 0,695 rechnen. Der Fehler, den man dadurch begeht, liegt, mit Ausnahme von Manihot- und Milostärke, unter 1 %; bei den beiden letzteren Stärkearten beträgt er ca. 1,9 %.

Die in Tabelle 8 berechnete Standardabweichung (mittlere quadratische Abweichung) gibt ein Mass für die Genauigkeit dieser Stärkebestimmung. Für die ganze Serie mit 42 Versuchen beträgt die mittlere quadratische Abweichung des Faktors ± 0,005 oder die relative Standardabweichung ± 0,75 %. Die Genauigkeit dieser Methode kann demnach als recht gut bezeichnet werden.

Bei den Faktorenbestimmungen wurde allerdings auf eine Vorbehandlung der Stärke mit Aether oder Alkohol verzichtet. Bei der Stärkebestimmung in Lebensmitteln, wo das abgewogene Untersuchungsmaterial zur Entfernung von Fett und störenden Eiweisstoffen vorbehandelt werden muss, ist noch mit einer geringen Erhöhung der Streuung zu rechnen.

9. Bestimmung der fällbaren Stärke in vorgekochten Stärkearten des Handels

In analoger Weise wurden in einigen vorgekochten sog. Quellstärken des Handels («precooked», «pregelatinized starch») die Faktoren bestimmt. Die Resultate sind in Tabelle 9 zusammengestellt. Neben den Faktoren dieser Stärkesorten wurde auch die Stärkeausbeute mit dem theoretischen Faktor berechnet.

Die vorgekochten Kartoffel- und Maisstärken ergeben ähnliche Faktoren wie die reinen nativen Stärken. Die Stärkeausbeute, berechnet mit dem theoretischen Faktor, ist nur wenig niedriger als bei den nativen Stärken. Die von uns untersuchte vorgekochte Tapiokastärke zeigte jedoch eine deutlich niedrigere Stärkeausbeute (im Mittel 87,5 %). Vermutlich ist diese Tapiokastärke beim fabrikmässigen Aufschluss etwas intensiver behandelt worden als die Kartoffel- oder Maisstärke, so dass die Stärkemoleküle teilweise zu niedriger molekularen Bruchstücken abgebaut worden sind, die mit Jod nicht mehr fällbar sind.

Tabelle 8

Faktoren für verschiedene Stärkearten nach dem modifizierten Verfahren nach von Fellenberg

(Bestimmung in der filtrierten Stärkelösung ausgeführt)

Stärkeart	Einwaage mg	Trocken-substanz %	Bichromat-verbrauch ml 0,1-n	Faktor	Mittlerer Faktor	Mittlere quadrat. Ab-weichung = S	Ausbeute (ber. mit theoret. Faktor = 0,675) %
Weizenstärke	51,85	86,55	12,89	0,696			
	53,64	86,55	13,41	0,692			
	53,34	86,55	13,34	0,692	**0,694**	0,0025 (= **0,4** %)	97,3
	53,86	86,55	13,35	0,698			
	53,23	86,55	13,31	0,692			
	54,87	86,55	13,69	0,694			
Maisstärke I	54,73	88,46	13,81	0,701			
	53,38	88,46	13,51	0,699			
	54,84	86,51	13,74	0,691			
	53,40	86,51	13,39	0,690			
	51,68	86,71	12,89	0,695	**0,695**	0,006 (= **0,9** %)	97,1
	57,16	86,71	14,52	0,683			
	54,27	86,71	12,60	0,692			
Maisstärke II	53,97	88,43	13,67	0,698			
	54,20	88,43	13,65	0,702			
Kartoffelstärke	51,28	84,07	12,58	0,686			
	55,84	84,07	13,55	0,693	**0,690**	0,006 (= **0,9** %)	97,8
	55,12	84,55	13,58	0,687			
	51,38	84,55	12,52	0,694			
Manihotstärke (Tapiokastärke)	48,17	84,06	11,51	0,703	**0,707**	0,006 (= **0,9** %)	95,5
	50,28	84,06	11,87	0,712			
Marantastärke	52,95	84,93	13,05	0,688	**0,689**	0,001 (= **0,2** %)	98,0
	52,32	84,93	12,87	0,690			
Reisstärke	50,57	85,96	12,52	0,694			
	58,47	85,96	14,27	0,692			
	56,24	85,96	13,75	0,703			
	59,85	85,96	14,45	0,707	**0,698**	0,006 (= **0,8** %)	96,6
	55,31	85,96	13,59	0,700			
	59,94	85,96	14,84	0,694			
	59,12	85,96	14,65	0,694			
Milostärke	53,59	82,89	12,50	0,711			
	53,94	82,89	12,57	0,711	**0,702**	0,010 (= **1,4** %)	96,1
	55,32	88,60	14,17	0,692			
	51,47	88,60	13,12	0,696			
Waxy Milostärke	49,49	85,33	11,94	0,707	**0,707**	0,000	95,5
	56,55	87,60	14,01	0,707			
Stärke aus gelben Erbsen	48,91	90,54	12,92	0,685	**0,690**	0,006 (= **0,9** %)	97,8
	49,00	90,54	12,78	0,694			
Stärke aus weissen Bohnen	49,77	86,06	12,34	0,694			
	43,99	86,06	10,85	0,694	**0,698**	0,005 (= **0,7** %)	96,6
	54,64	86,06	13,35	0,704			
	52,90	86,06	13,01	0,700			

Tabelle 9

Vorgekochte Stärken untersucht nach dem modifizierten Verfahren nach von Fellenberg

Stärkeart	Trocken-substanz %	Asche %	Einwaage mg	Verbrauch ml 0,1-n $K_2Cr_2O_7$	Ausbeute berechnet mit theoret. Faktor 0,675 %	Ber. Faktor (Mittel)
Vorgekochte Kartoffelstärke	93,49	0,48	50,95	13,62	96,6	**0,703**
			51,54	13,63	95,5	
Vorgekochte Maisstärke	90,04	0,64	47,75	12,25	96,1	**0,700**
			46,89	12,09	96,7	
Vorgekochte Tapiokastärke	92,25	0,15	56,27	13,71	89,1	**0,771**
			55,42	13,19	87,1	
			56,61	13,52	87,5	
			57,02	13,47	86,4	
			54,06	12,61	85,3	
			54,06	13,00	88,0 *)	
			54,80	13,50	90,1	
			53,35	12,77	87,6	

*) Jodstärke-Fällung in unfiltrierter Lösung

10. Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials

Bei Backwaren bietet die Stärkebestimmung, wie bereits mehrfach erwähnt, oft erhebliche Schwierigkeiten, weil sich die Stärke nicht gut aus dem verkleisterten und gebackenen Material herauslösen lässt. Die Stärke wird zum Teil von anderen Bestandteilen (Proteinen) eingeschlossen und ist daher dem Lösungsmittel schwierig zugänglich. Diese störenden Stoffe lassen sich, besonders nach einem Back- oder Röstprozess, mühsam und oft nur durch eine etwas umständliche Vorbehandlung entfernen.

Mahlungsgrad

Der erste Schritt zum Stärkeaufschluss ist eine staubfeine Vermahlung des Materials. Für trockenes Material eignet sich hierfür am besten eine Kugelmühle (Mahlzeit 6–8 Stunden). Das Material soll schliesslich Sieb VI des Lebensmittelbuches (Maschenweite 0,18 mm) restlos passieren. Eine gute Mahlung und Siebung können die Ausbeute um mehrere Prozente erhöhen, wie nachstehendes Beispiel zeigt.

	Stärkegehalt
Paniermehl, im Mörser fein verrieben, abgesiebt durch Sieb V	58,0 %
	57,8 %
Paniermehl, in einer Kugelmühle gemahlen, abgesiebt durch Sieb VI	60,0 %
	60,5 %

Varianten der Vorbehandlung

Trockenes, fetthaltiges Material kann durch eine Vorbehandlung mit Aether weitgehend entfettet werden. Wasserhaltiges, fettreiches Material wird zuerst mit absolutem Alkohol entwässert und dann mittels Aether entfettet.

Die zweckmässige Entfernung von Stoffen (hauptsächlich Eiweisstoffen), die Stärke einschliessen oder die von Stärke adsorbiert werden, ist bereits umständlicher. Schon aus der Stärkegewinnung ist bekannt, dass es Proteinbestandteile gibt, die sich sehr schwer restlos abtrennen lassen, da in den Naturstoffen die Proteine, wie z. B. Kleber, eng mit den Stärkekörnern verkittet sind [9]). Das Weizenkorn enthält nach Angaben des Handbuches der Lebensmittelchemie [10]) zwischen 10 und 14 % Proteine. Bei Brot beträgt der Gehalt rund 10 bis 11 %, für Paniermehl aus Weizen wird ca. 15 % angegeben.

Die wichtigsten vorhandenen Eiweisstoffe in Prozent des Gesamtproteins sind: Gliadin 50 %, Glutein 25 %, Globulin 10 – 20 %, Albumin 2 – 3 %. Mit Ausnahme des Glutenins, das aufquillt, lassen sich nach *Schoorl* [11]) alle diese Proteine in verdünnten Säuren mehr oder weniger lösen. *Von Fellenberg* [1]) empfiehlt zum Lösen der Eiweisstoffe die Vorbehandlung mit 60%igem Alkohol.

a) Vorbehandlung mit essigsaurem 60%igem Alkohol

Bei Backwaren haben wir durch Vorbehandlung mit reinem 60%igem Alkohol nach *von Fellenberg* keine befriedigenden Resultate erhalten. Es wurde daher eine Vorbehandlung mit 0,02-n essigsaurem 60%igem Alkohol versucht. Das abgewogene Untersuchungsmaterial (fein vermahlenes und gesiebtes Paniermehl) wurde mit 10 ml 60%igem essigsaurem Alkohol verrieben, dann zentrifugiert und der Alkohol abgegossen. Diese Alkoholbehandlung wurde einmal wiederholt und das so vorbehandelte Material mit 5 ml 35%iger gepufferter Calciumchloridlösung (pH = 6,0) versetzt und während 5 Minuten gekocht. Die Stärkelösung filtrierte jedoch schlecht und die Ausbeute im Filtrat war viel zu niedrig (37,4 %), verglichen mit dem polarimetrisch ermittelten Wert (60,8 und 61,0 %). Darauf wurden in einer Serie analog mit essigsaurem Alkohol vorbehandelter Proben die Aufschlussbedingungen variiert. Die Resultate sind in Tabelle 10 zusammengestellt. Die Verlängerung der Kochzeit von 5 auf 10 Minuten brachte bereits eine wesentliche Verbesserung der Ausbeute. Die Erhöhung der Calciumchloridkonzentration auf 40 % und eine Erniedrigung des pH-Wertes von 6,0 auf 5,4 in 35%iger Calciumchloridlösung führten alle zu besseren, z.T. richtigen Resultaten. Wegen der erhöhten Gefahr eines Stärkeabbaues verzichteten wir jedoch auf weitere Versuche mit Pufferlösungen mit niedrigerem pH-Wert.

Bei einer Kochzeit von 10 bis 15 Minuten und Erhöhung der Calciumchloridkonzentration auf 40 % wurden durchwegs höhere, annähernd richtige Werte erhalten. In dieser Serie haben wir noch nicht auf die Siedetemperatur der Flüssigkeit im Reagensglas geachtet. Da nach der Vorbehandlung stets ziemliche

Tabelle 10

Stärkebestimung in Paniermehl (Trockensubstanz 91,1 %)

Vorbehandlung mit 0,02-n essigsaurem 60%igem Alkohol

Einwaage mg	Konzentration der $CaCl_2$-Lösung	pH	Kochzeit Minuten	Filtration	% Stärke im	
					Filtrat	Zentrifugat
	%				%	%
95,38	35	6,0	5	schlecht	37,4	41,9
93,73	35	6,0	10	schlecht	53,0	57,7
94,24	35	5,4	5	unbefriedigend	57,8	58,5
91,63	40	6,0	5	unbefriedigend	55,1	57,6
92,22	40	6,0	10	gut	—	60,6
92,35	40	6,0	15	gut	58,7	60,5
95,70	40	6,0	15	ziemlich gut	60,2	60,8

Mengen 60%igen Alkohols im verquollenen Untersuchungsmaterial zurückbleiben, wird die Calciumchloridlösung etwas verdünnt und siedet bei wesentlich niedrigerer Temperatur. Bei längerem Kochen wird die Flüssigkeit etwas eingeengt, und die Siedetemperatur steigt an. Erfahrungsgemäss wird die Stärke erst richtig gelöst, wenn eine Temperatur von 120 bis 121° erreicht ist.

b) Vorbehandlung mit Alkylbenzolsulfonat

Forster und Mitarbeiter [12]) haben auf die Möglichkeit hingewiesen, Maisproteine praktisch quantitativ mittels einer verdünnten wässerigen Lösung von Alkylbenzolsulfonat zu extrahieren. Durch eine kombinierte Anwendung von Dodecylbenzolsulfonat (DBS) und einer siedenden Pufferlösung haben wir nach zahlreichen Versuchen eine Vorbehandlung gefunden, bei der alle störenden Stoffe genügend entfernt werden und die auch bei Backwaren zu richtigen Resultaten führt.

Das Material (ca. 90 mg Paniermehl) wurde mit 3,5 ml 0,2-m Essigsäure-Acetatpuffer-Lösung (pH = 5,0), welche 0,2 % Dodecylbenzolsulfonat *) enthält, während 3 Minuten vorsichtig und unter Verreiben mit einem Glasstab gekocht, dann abgekühlt, mit 0,5 ml 0,1-n Jodlösung versetzt und nach dem Umschwenken mit 6 ml absolutem Alkohol versetzt, dann gut gemischt und zentrifugiert.

Durch das Kochen mit gepufferter Dodecylbenzolsulfonatlösung verquillt das Material weitgehend und die Stärke wird grösstenteils aufgeschlossen. Die Jodlösung bewirkt die Ausfällung der Stärke als Jodstärke. Mit absolutem Alkohol wird die Lösung schliesslich auf eine Konzentration von ca. 60 Vol.% Alkohol gebracht, worin die zu entfernenden Eiweisstoffe grösstenteils löslich sind. Nach

*) Handelsprodukt: Santomerse I, zu beziehen durch Sprengstoffabrik Dottikon.

dem Auszentrifugieren wird der Rückstand noch zweimal mit 60%igem Alkohol nachgewaschen. Die so vorbehandelte Probe wird anschliessend, wie beschrieben, mit gepufferter Calciumchloridlösung gekocht.

Tabelle 11

Stärkebestimmung in Paniermehl (Trockensubstanz 91,1 %)

Vorbehandlung: 3 Minuten langes Kochen mit gepufferter Dodecylbenzolsulfonatlösung (pH = 5,0), anschliessend Fällung mit Jod und Alkohol

Einwaage mg	Konzentration der $CaCl_2$-Lösung	pH	Kochzeit Minuten	Filtration	% Stärke im	
					Filtrat	Zentrifugat
	%					
93,07	35	6,0	5	schlecht	41,3	51,0
93,63	35	6,0	5	ziemlich gut	—	55,8
93,93	35	6,0	5	ziemlich gut	—	55,9
91,40	35	6,0	15	ziemlich gut	58,3	60,2
94,03	35	6,0	15	gut	—	61,9
95,29	35	6,0	15	gut	—	61,9
93,83 [1])	40	6,0	5	ziemlich gut	57,6	59,4
92,05	40	6,0	5	ziemlich gut	57,3	59,7
94,43 [2])	40	6,0	15	gut	62,5	62,6
93,04	40	6,0	15	gut	62,1	62,6

[1]) Vorbehandlung: nicht 3 Minuten gekocht, sondern nur kurz aufgekocht und sofort gekühlt.
[2]) Vorbehandlung: 2 Minuten statt 3 Minuten gekocht.

In Tabelle 11 sind verschiedene Versuche mit Paniermehl zusammengestellt, bei denen die eben beschriebene Vorbehandlung mit gepufferter Dodecylbenzolsulfonatlösung durchgeführt wurde. Der eigentliche Aufschluss mit Calciumchloridlösung wurde hinsichtlich Konzentration und Kochzeit variiert.

Aus dem Zahlenmaterial geht hervor, dass eine Kochzeit von 5 Minuten auch bei dieser Vorbehandlung für eine 35%ige Calciumchloridlösung nicht ausreicht. Die Lösungen sind zu wenig gut filtrierbar und geben zu niedrige Resultate. Eine Kochzeit von 15 Minuten gibt im Zentrifugat sehr gute Resultate. Auch bei Verwendung einer 40%igen $CaCl_2$-Lösung reichen 5 Minuten nicht völlig aus, obschon die Ergebnisse bedeutend besser sind. Hier gibt eine Kochzeit von 15 Minuten das höchste Resultat sowohl im Filtrat als im Zentrifugat. Die Differenz zwischen Filtrat und Zentrifugat ist hier am kleinsten.

Nachdem für die verschiedenen Produkte die geeignete Vorbehandlung gefunden war, musste noch geprüft werden, ob dadurch kein merklicher Stärkeabbau erfolgt. An Tabelle 12 sind einige Modellversuche mit und ohne Vorbehandlung von reiner Weizenstärke aufgeführt. Die Aufschlussbedingungen (Kochzeit, Calciumchloridkonzentration) sind konstant gehalten worden. Man findet nahezu die gleichen Resultate, gleichgültig ob mit Dodecylbenzolsulfo-

Tabelle 12

Einfluss der Vorbehandlung

Modellversuche mit Weizenstärke (5 Minuten mit 40%iger $CaCl_2$-Lösung gekocht)

Nr.	Vorbehandlung	Stärkeausbeute ber. mit theoretischem Faktor 0,675 %
1	ohne	96,5
2	mit DBS	94,4
3	» »	94,8
4	» »	94,7
5	» »	94,3
6	mit 0,02-n esigsaurem 60%igem Alkohol	95,9
7	» »	96,0

nat vorbehandelt wurde oder nicht. Die Stärkeausbeute liegt etwas unter den in Tabelle 7 und 8 (Faktorenbestimmung) gefundenen Werten, wo nach der endgültigen Arbeitsvorschrift gearbeitet wurde. Es besteht die Möglichkeit, dass durch die Kombination der Vorbehandlung und der auf 15 Minuten verlängerten Kochzeit ein geringer Stärkeabbau erfolgt. Trotzdem hatten diese extremen Aufschlussbedingungen bei Paniermehl die höchsten Stärkeausbeuten geliefert, offenbar weil unter milderen Bedingungen die Stärke nur unvollständig aus dem Untersuchungsmaterial herausgelöst wird, was bedeutend grössere Fehler verursacht als der minime Stärkeabbau.

Da das verquollene Untersuchungsmaterial nach der Vorbehandlung stets beträchtliche Mengen Wasser und Alkohol enthält, wodurch die Calciumchloridlösung verdünnt wird, haben wir zum eigentlichen Aufschluss stets 40%ige Calciumchloridlösung benützt. Die Flüssigkeit wurde während des Kochens mit einem Stabthermometer gerührt und soviel Flüssigkeit weggekocht, bis eine Siedetemperatur von 121° C erreicht war. Von diesem Moment an muss die Lösung noch während 5 Minuten, bei Backwaren aber noch 10 bis 15 Minuten weitergekocht werden. Hierauf wird sie verdünnt, in ein Messkölbchen übergeführt, mit 2,5 ml n-Salzsäure versetzt, auf 50 ml aufgefüllt und filtriert. Aliquote Teile des Filtrates werden wie üblich aufgearbeitet.

11. Anwendung der titrimetrischen Methode auf verschiedene Lebensmittel

Nachdem die Methode gründlich überprüft und auch die Vorbehandlung für alle möglichen Produkte ausprobiert worden war, haben wir in möglichst verschiedenartigen Lebensmitteln die Stärke nach der im Abschnitt Methodik angegebenen Vorschrift bestimmt. Als Beispiele sind in Tabelle 13 einige Resultate

Tabelle 13

Stärkebestimmung in verschiedenen Lebensmitteln nach der titrimetrischen Methode

Material	Trockensubstanz %	Einwaage mg	Vorbehandlung (siehe Anmerkung Tab. 27)	Zur Jodfällung benützter Anteil ml	Verbrauch 0,1-n $K_2Cr_2O_7$ ml	% Stärke in der Tr. Faktor = 0,695
Weissmehl	88,81	72,23	II	10	14,64	79,3
		72,12	I	10	14,68	79,6
		73,07	I	10	14,84	79,5
Knäckebrot	91,01	93,19	V	10	15,38	63,0
		90,86	V	10	15,03	63,2
Zwieback Winterthur	98,04	89,99	V	10	14,50	57,1
		91,29	V	10	14,64	56,8
Kindermehl II	—	198,5	V	5	11,26	39,4
		191,4	V	5	10,78	39,1
Kakaopulver	93,06	303,9	II	10	12,18	15,0
		303,6	II	10	12,15	14,9
Fleisch-Paste	—	1194,9	VII	10	10,75	3,12
		1515,1	VII	10	13,28	3,04

zusammengestellt. Die Methode liefert sowohl bei stärkereichen als auch bei stärkearmen Produkten gut reproduzierbare Resultate. Wie bereits erwähnt, muss die Vorbehandlung je nach Art des Untersuchungsmaterials variiert und angepasst werden. Die Vorbehandlung ist jeweils mit römischen Ziffern bezeichnet, und in der Fussnote zu Tabelle 27 findet man alle näheren Angaben.

Der genaue Stärkegehalt war für die meisten Präparate nicht bekannt. Da die Werte aber auch kolorimetrisch und polarimetrisch, also nach ganz anderen Methoden bestimmt wurden und im allgemeinen gute Uebereinstimung gefunden wurde, dürfen sie als genügend gesichert angesehen werden.

In Tabelle 27 sind die nach verschiedenen Methoden gefundenen Resultate sämtlicher von uns untersuchten Lebensmittel angeführt.

II. Kolorimetrische Stärkebestimmung

Für die Praxis wäre es wertvoll, neben der recht umständlichen und zeitraubenden titrimetrischen Methode noch eine kolorimetrische Schnellmethode für die Stärkebestimmung zu besitzen. Verschiedentlich wurde vorgeschlagen, die Blaufärbung der Jodstärke kolorimetrisch auszuwerten.

Der Chemismus der Jodstärkefärbung ist recht kompliziert und verläuft nicht nach stöchiometrischen Gesetzen. Auf Grund sehr eingehender Untersuchungen von *Meyer* [13]) besteht Stärke im Prinzip aus mindestens 2 verschiedenen Fraktionen. Aus einer geradkettigen, unverzweigten Komponente, der Amylose, und einer verzweigten Komponente, dem Amylopektin. Amylose gibt mit Kaliumjodid-Jodlösung eine intensive, reine Blaufärbung, während Amylopektin eine viel schwächere rötlich-violette Färbung gibt. Ueber den Reaktionsmechanismus zwischen Amylose und Jod haben *Hollo* und *Szejtli* [14]) eine interessante Theorie aufgestellt, die experimentell bewiesen sein soll. In wässeriger Lösung bildet die Amylose mehr oder weniger lange Spiralen. Bei der Titration mit 0,01-n Jodlösung soll das Jod in das Innere dieser Amylosenspiralen eingelagert werden, wobei eine angefangene Spirale immer vollständig aufgefüllt wird, bevor die nächste Amylosespirale mit Jod reagiert. Auf Grund ampèrometrischer Titrationen kommen *Hollo* und *Szejtli* zum Schluss, dass die Jodsorptionskurve der Stärke in zwei Abschnitte zu unterteilen ist. In einem ersten Abschnitt, bei niedriger Jodkonzentration, zeigt die Kurve keine adsorptiven Merkmale. Dieses Kurvenstück entspricht demjenigen Zustand, in welchem Jod in das Innere der Amylosespiralen aufgenommen wird. Bei diesem Vorgang wirken einerseits Wasserstoffbindungen und anderseits das Dipolmoment. In einem zweiten Abschnitt, bei höheren Jodkonzentrationen, beschreibt die Sorptionskurve eine *Freundlich*sche Adsorptionsisotherme. Der Mechanismus trägt ebenfalls den Charakter einer Wasserstoffbindung, jedoch ohne Dipolmoment.

Hollo und *Szejtli* [15]) beschreiben eine angeblich recht genaue ampèrometrische Stärkebestimmung, die aber spezielle Apparaturen erfordert und im Grunde auf eine Amylosebestimmung hinausläuft.

In diesem Zusammenhang interessierten uns vorab kolorimetrische Methoden. Auf komplizierte theoretische Spekulationen haben wir uns nicht eingelassen, da man sich bewusst sein muss, dass eine kolorimetrische Stärkebestimmung, die auf der Blaufärbung beruht, immer empirisch ist. Die Farbintensität ist von zahlreichen Faktoren abhängig. Hauptsache ist, wenn es gelingt, gut reproduzierbare, für die Praxis brauchbare Resultate zu erhalten.

Ulmann und *Augustat* [16]) haben eine Arbeit über die quantitative Bestimmung des Gehaltes an Amylose in Stärke nach der «Blauwert»-Methode veröffentlicht. In dieser Publikation findet man zahlreiche Literaturzitate, sowie eine eingehende Besprechung der Reaktion zwischen Stärke und Jod und eine Eichkurve für Amylose-Amylopektinmischungen.

Eine von *Berliner* und *Krantz* [17]) ausgearbeitete Methode, die im Buch von *Rohrlich* und *Brückner* [18]) «Das Getreide» angegeben ist (S. 99), erwies sich bei eigenen Versuchen als unbrauchbar. Dabei wird das Untersuchungsmaterial mit 20%iger Calciumchloridlösung während 10 Minuten am Rückflusskühler gekocht, dann filtriert und ein aliquoter Teil mit Wasser verdünnt. Auf Zusatz der vorgeschriebenen Menge Jodlösung (1 ml n-J) zu der entsprechend verdünnten Stärkelösung flockte die Jodstärke fast momentan aus, so dass eine

kolorimetrische Bestimmung unmöglich war. Offenbar war die Jodkonzentration viel zu hoch. Auch sind die Aufschlussbedingungen bei dieser Methode nicht optimal gewählt worden.

McCready und Mitarbeiter [19]) haben eine kolorimetrische Methode ausgearbeitet, bei welcher das Untersuchungsmaterial in kalter Perchlorsäure gelöst wird. Auf dieses Verfahren soll hier nicht weiter eingegangen werden, da wir beabsichtigten, aus dem mit heisser Calciumchloridlösung aufgeschlossenen Ma- für die kolorimetrische Bestimmung benützt werden sollte. *Pucher* und *Vickery* [20]) beschreiben eine kolorimetrische Methode, bei der sie die Stärke mittels konz. Calciumchloridlösung aus dem Untersuchungsmaterial herauslösen, dann in analoger Weise wie bei *von Fellenberg* mit Jodlösung als Jodstärke fällen und mit 60%igem Alkohol auswaschen. Die Jodstärke wird anschliessend mit alkoholischer Kalilauge zersetzt und die gereinigte, mehrfach ausgewaschene Stärke kolorimetrisch als Jodstärke bestimmt.

Da wir anlässlich der Überprüfung der titrimetrischen Methode nach *von Fellenberg* in systematischen Versuchsreihen die optimalen Aufschlussbedingunterial eine Stammlösung herzustellen, die sowohl für die titrimetrische als auch gen mit Calciumchloridlösung studiert hatten, sollten auch für die kolorimetrische Bestimmung die gleichen Bedingungen angewandt werden. Auf Versuche zum Lösen der Stärke im Autoklaven, wie es früher gelegentlich empfohlen wurde, oder in weniger konzentrierter Calciumchloridlösung, wie sie *Berliner* und *Krantz* [17]) angeben, wurde verzichtet, da nach unseren Erfahrungen dabei die Stärke entweder unvollständig in Lösung geht oder aber bereits teilweise zu Dextrinen abgebaut wird.

Die Blaufärbung der Jodstärke wird von zahlreichen Faktoren beeinflusst, die im folgenden der Reihe nach kurz besprochen werden sollen.

1. Absorptionsspektrum der Jodstärke

Wird die nach *von Fellenberg* erhaltene filtrierte Stammlösung so weit verdünnt, dass sie in 100 ml etwa 1 bis 8 mg Stärke enthält, so entsteht auf Zusatz von 1 bis 1,5 ml 0,02-n Jodlösung eine recht beständige Blaufärbung, die dem *Beer*schen Gesetz gehorcht und sich gut photometrisch auswerten lässt. Das Absorptionsmaximum ist für die verschiedenen Stärkearten etwas unterschiedlich (575 bis 610 mμ). In Figur 1 sind die Absorptionskurven von Weizen- und Kartoffelstärke wiedergegeben. Die Kurven sind sehr ähnlich. Das Absorptionsmaximum liegt für Weizenstärke bei 585 mμ, für Kartoffelstärke (Sorte Ideal) zwischen 575 und 580 mμ. Es ist zu berücksichtigen, dass sich in Wirklichkeit zwei Absorptionskurven überlagern, da Amylose und Amylopektin mit Jod verschieden reagieren. *Lampitt* und *Fuller* [21]) haben die Jodreaktion von reiner Amylose und von Amylopektin aus Kartoffelstärke untersucht. Unter den Bedingungen, wie sie *McCready* vorgeschlagen hat, fanden sie die Absorptions-

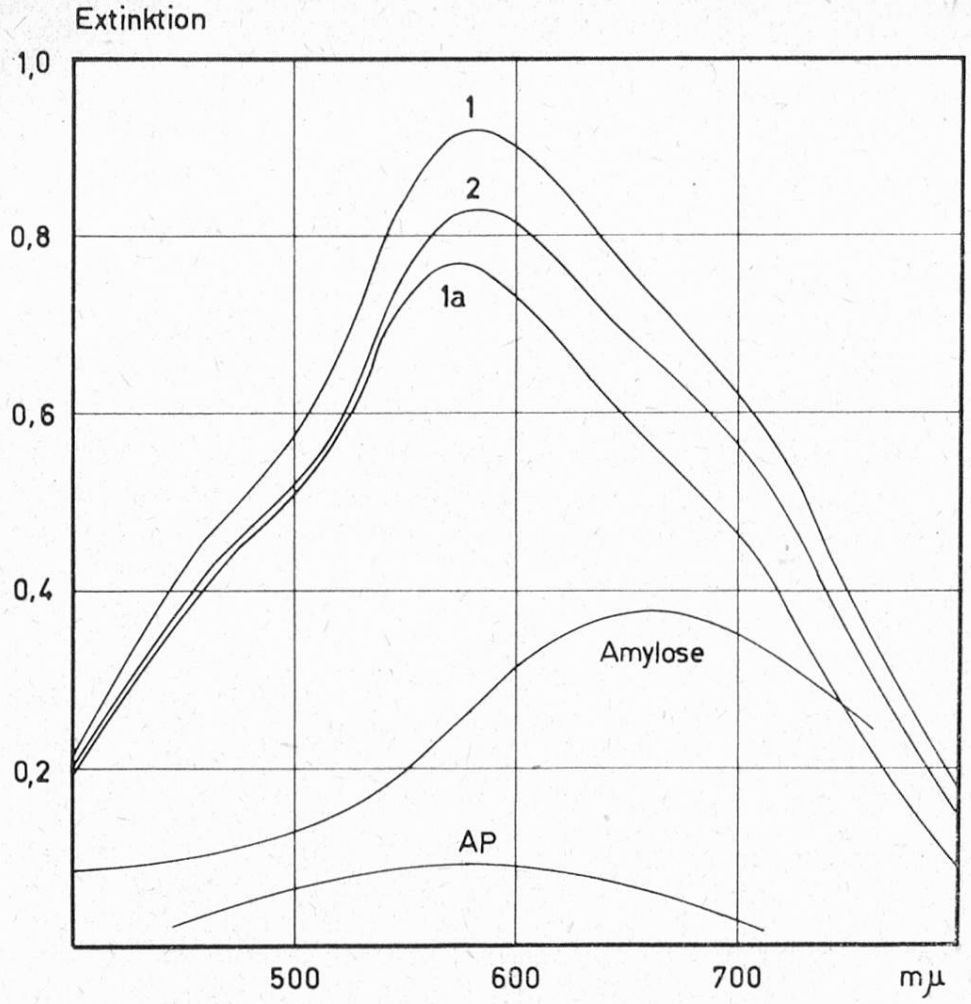

Fig. 1

Erklärungen

Die Absorptionskurven wurden gegen eine Blindprobe ohne Stärke, aber mit allen Reagenzienzusätzen gemessen. Bei allen Proben waren in 100 ml Endlösung enthalten: 1,0 ml n-HCl, 1,5 ml 0,02-n J.

1. Kartoffelstärke Sorte Ideal 6,66 mg Stärke
1a. Kartoffelstärke Sorte Ideal 5,63 mg Stärke + 1 ml DBS, 1%ig
2. Weizenstärke 8,00 mg Stärke + 1 ml DBS, 1%ig

AP: Absorptionskurve für Amylopektin nach *Lampitt*
Amylose: Absorptionskurve für Amylose nach *Lampitt*

kurven, die wir in Figur 1 ebenfalls eingezeichnet haben. Auffallenderweise liegen die von uns beobachteten Absorptionsmaxima für verschiedene Stärkearten viel näher beim Maximum des Amylopektins als beim Maximum der Amylose.

Die Literaturangaben über die Absorptionsmaxima der Jodkomplexe mit Amylose und Amylopektion gehen jedoch auseinander, wie folgende Zahlen zeigen:

	Absorptionsmaxima (in mμ) der Jodkomplexe)
nach *Lampit* und *Fuller* [21])	
Amylose	660
Amylopektin	580
nach *Baldwin, Bear* und *Rundle* [22])	
Waxy Mais (100 % Amylopektin)	540
Kartoffel-Amylopektin	550
Mais-Amylopektin	575
Mais-Amylose	620
Kartoffel-Amylose	630

Die Lage des Maximums hängt vermutlich etwas von den Versuchsbedingungen und sehr stark von der Reinheit und vom Polymerisationsgrad der betreffenden Fraktion ab. Es sind hauptsächlich zwei Faktoren, die das Absorptionsspektrum der Jodstärke beeinflussen: einmal die Kettenlänge (Polymerisationsgrad), anderseits die Verzweigung der Kette [*Bonner* [23]), S. 55]. Nur die langen, unverzweigten Amyloseketten geben die typisch blaue Jodfärbung mit einem Absorptionsmaximum bei längeren Wellen. Verzweigte Amylopektinfraktionen geben blauviolette bis rotbraune Färbungen und absorbieren viel schwächer und bei kürzeren Wellenlängen.

2. Jodkonzentration

In Figur 2 ist die Abhängigkeit der Extinktion von der Jodkonzentration dargestellt. In 100 ml Messkölbchen wurden gleiche Mengen einer Stärkelösung (je 4,0 mg wasserfreie Kartoffelstärke) mit Wasser auf ca. 80 ml verdünnt, je

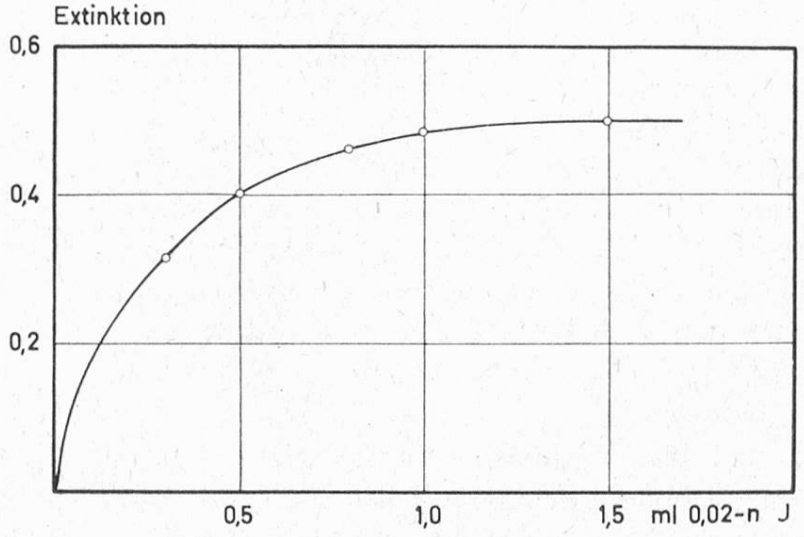

Fig. 2

1 ml n-Salzsäure und steigende Mengen einer 0,02-n Jodlösung zugesetzt. Die Intensität der Blaufärbung nimmt im Anfang stark zu und strebt bei höheren Jodkonzentrationen asymptotisch einem Endwert zu. Für die Praxis ist es nicht

empfehlenswert, mit zu hohen Jodkonzentrationen zu arbeiten, weil sonst die Jodstärke oft schon nach kurzer Zeit ausflockt. 1 bis 1,5 ml 0,02-n Jodlösung in 100 ml Endlösung erwiesen sich als optimal.

3. Salzsäurekonzentration

Bei den ersten Versuchsserien wurde in neutraler Lösung gearbeitet. Die in Calciumchloridlösung (mit Puffer pH = 6) gelöste Stärke wurde weiter verdünnt und aliquote Teile für die Farbreaktionen verwendet. Es ergaben sich stark streuende Resultate (Abweichungen bis zu 12 % der Extinktion bei Parallelbestimmungen). Durch einen Zusatz von verdünnter Salzsäure wird die Reproduzierbarkeit wesentlich verbessert.

Tabelle 14

Einfluss der Salzsäurekonzentration

Von einer Stammlösung, die 83,5 mg wasserfreie Kartoffelstärke in 100 ml enthielt, wurden je 5 ml in 100 ml-Messkolben abpipettiert, mit Wasser auf ca. 80 ml verdünnt, steigende Mengen n-Salzsäure und je 1,5 ml 0,02-n J zugesetzt, dann auf 100 ml verdünnt und die Extinktion bei 600 mμ in der 1 cm-Küvette gemessen.

ml n-HCl in 100 ml Endlösung	Stammlösung I			Stammlösung II
0,25	0,641	0,634	0,632	0,640
1,25	0,641	0,637		0,640
2,25	0,643			0,643
5,25	—			0,628

Sowohl bei Parallelbestimmung mit der gleichen Stammlösung als auch bei Bestimmungen mit einer anderen Stammlösung werden gut reproduzierbare Extinktionswerte gefunden. Die Extinktion ist von der Salzsäurekonzentration wenig abhängig. Nur bei zu hohen Konzentrationen wird eine deutliche Abnahme beobachtet, was vermutlich auf einen Stärkeabbau infolge Hydrolyse zurückzuführen ist. Eine Säurekonzentration von 1 ml n-Salzsäure in 100 ml Endlösung hat sich gut bewährt.

4. Kaliumjodidkonzentration

In wässeriger Kaliumjodid-Jodlösung liegt das Jod als Komplex $K(J_3)$ vor, der dann zu einem Gleichgewicht mit der blauen Jodstärke führt. Nach *Lampitt* und *Fuller* [21]) sollen höhere Kaliumjodidkonzentrationen günstiger sein und eine höhere Extinktion bei längeren Wellenlängen geben.

Tabelle 15

Einfluss der Kaliumjodidkonzentration

Aliquote Teile einer Stammlösung von 50 mg wasserfreier Maisstärke in 50 ml wurden einmal mit 1 ml üblicher 0,02-n Jodlösung, einmal mit einer Jodlösung, die wesentlich mehr Kaliumjodid enthielt, versetzt.

Wasserfreie Stärke in 100 ml Endlösung	1 ml 0,02-n Jodlösung enthaltend 5 g KJ im Liter Extinktion	1 ml 0,02-n Jodlösung enthaltend 45 g KJ im Liter Extinktion
2 mg	0,205	0,210
4 mg	0,411	0,426

Die Resultate in Tabelle 15 zeigen, dass durch Erhöhung der Kaliumjodidkonzentration nur eine minime Verstärkung der Färbung erreicht wird. Da sich aber kein wesentlicher Vorteil ergibt, wurde in Zukunft immer mit der gewöhnlichen 0,02-n Jodlösung, die man durch Verdünnen aus 0,1-n Lösung erhält, gearbeitet.

5. Kochzeit

Bei den früheren Versuchen nach der titrimetrischen Methode wurde darauf hingewiesen, dass unter bestimmten Bedingungen durch längeres Kochen mit Calciumchloridlösung die Stärke teilweise abgebaut wird. Aus den Resultaten der Tabelle 7 ist allerdings ersichtlich, dass unter den Bedingungen der endgültigen Arbeitsvorschrift (pH = 6,0) eine Kochzeit bis zu 15 Minuten keinen Stärkeabbau bewirkt. Durch die Versuche in Tabelle 16 wurde diese Frage auch für die kolorimetrische Methode untersucht. Eine Verlängerung der Kochzeit von 5 auf 15 Minuten hat demnach auf die Extinktion der Jodstärke keinen Einfluss.

Tabelle 16

Einfluss der Kochzeit

50 mg Maisstärke (Trockensubstanz) wurden mit 5 ml 35%iger gepufferter Calciumchloridlösung (pH = 6,0) während 5 bzw. 15 Minuten gekocht, dann abgekühlt und auf 50 ml verdünnt. Zu aliquoten Teilen der filtrierten Stammlösung wurden in 100 ml-Messkolben je 1 ml n-HCl und 1 ml 0,02-n Jodlösung zugesetzt und die Extinktion der Blaufärbung bei 600 mμ in der 1 cm-Küvette gemessen.

Kochzeit	2 mg Stärke in 100 ml Endlösung	4 mg Stärke in 100 ml Endlösung
5 Minuten	0,210	0,409
15 Minuten	0,211	0,411

6. Calciumchloridkonzentration

Die Stärke wird bei unserer Methode durch Kochen mit 5 ml 35- oder 40-%iger Calciumchloridlösung aufgeschlossen. Anschliessend werden aliquote Teile einer filtrierten Stammlösung verdünnt und mit Jodlösung versetzt. Da je nach der Menge der abpipettierten Stammlösung (1 bis 10 ml) die Calciumchloridkonzentration in der Endlösung variiert, musste noch abgeklärt werden, ob diese Aenderungen keinen Einfluss auf die Extinktion der Blaufärbung hat. Durch Zusatz von reiner Calciumchloridlösung bis zur 5fachen Konzentration wurde keine Farbänderung beobachtet. Zu hohe Calciumkonzentrationen können zwar stören, weil sie das Ausflocken der Jodstärke beschleunigen.

7. Reihenfolge der Reagenzienzusätze

Nach *Meyer* und *Bernfeld* [24]) entstehen verschiedene Jodstärkeverbindungen, je nachdem, ob die Stärke oder die Jodlösung im Ueberschuss vorliegen. Der blaue Körper des Jod-Amylose-Aggregats wurde von *Meyer* und *Bernfeld* isoliert. Er besitzt ungefähr folgende Zusammensetzung:

bei Amyloseüberschuss $J_{2n}(C_6H_{10}O_5)_{20n}$ (I)
bei Jodüberschuss $J_{2n}(C_6H_{10}O_5)_{10n}$ (II)

Gibt man zu einer verdünnten Stärkelösung tropfenweise Jodlösung, so liegt bei Beginn der Reaktion die Stärke in grossem Ueberschuss vor, und es müsste sich die Verbindung I bilden. Gegen Ende der Reaktion, wenn die gesamte Jodmenge zugesetzt ist, besteht ein beträchtlicher Jodüberschuss. Es müsste sich die am Anfang gebildete Verbindung I unter weiterer Jodaufnahme in die intensiver gefärbte Verbindung II umwandeln. Anders liegen die Verhältnisse, wenn man in eine verdünnte Jodlösung tropfenweise und unter ständigem Schütteln die Stärkelösung zugibt. Es herrscht von Anfang an ein Jodüberschuss, und es kann sich direkt Verbindung II bilden. Man beobachtet tatsächlich um

Tabelle 17

Einfluss der Reihenfolge der Reagenzienzusätze

(Extinktion bei 600 mμ in 1 cm-Küvette)

	4 mg Stärke in 100 ml Endlösung	5 mg Stärke in 100 ml Endlösung
1,0 ml 0,02-n Jod in die auf 80 ml verdünnte Stärkelösung eingetropft	0,467	0,563
Stärkelösung in die auf 80 ml verdünnte Jodlösung (1 ml 0,02-n) eingetropft	0,484	0,593
Extinktionsdifferenz in %	+ 3,5	+ 5,1

3 bis 5 % höhere Extinktionswerte, wenn man die Stärkelösung eintropft, wie aus den Resultaten der Tabelle 17 hervorgeht. Nach unsern Beobachtungen scheint bei dieser Reihenfolge auch die Reproduzierbarkeit etwas besser zu sein.

8. Zusatz eines Dispersionsmittels
(Dodecylbenzolsulfonat = DBS)

Jodstärke hat die Neigung, aus wässriger Lösung auszuflocken. Besonders bei höheren Stärkekonzentrationen oder bei grösserem Jodüberschuss flockt die Jodstärke oft schon nach wenigen Minuten aus, so dass eine kolorimetrische Messung unmöglich ist. Die Tendenz zum Ausflocken ist von einer Stärkesorte zur andern recht unterschiedlich. So flockte beispielsweise eine bestimmte Kartoffelstärke nie aus, während bei einer anderen Kartoffelstärke die Jodstärke schon nach wenigen Minuten koagulierte. Möglicherweise sind dafür Spuren gewisser Verunreinigungen verantwortlich. Durch Zusatz einer Spur eines Dispersionsmittels (Dodecylbenzolsulfonat) kann das Ausflocken der Jodstärke weitgehend verhindert werden. Die Lösungen bleiben während mehreren Stunden vollständig klar und lassen sich einwandfrei photometrieren. Bei Zusatz von Dodecylbenzolsulfonat lässt sich auch der Jodüberschuss erhöhen, wodurch man schön lineare und besser reproduzierbare Eichkurven erhält.

Dodecylbenzolsulfonat ist ein Netzmittel mit einer stark polaren Sulfogruppe und einem wasserabstossenden Kohlenwasserstoffrest. Die kolloidalen Jodstärketeilchen, welche die Neigung haben, sich zu grösseren Aggregaten zusammenzulagern, die schliesslich ausflocken, werden bei Gegenwart dieses Netzmittels von einer Hülle von Dodecylbenzolsulfonat-Molekeln umgeben, wodurch eine Zusammenlagerung zu grösseren Teilchen weitgehend verhindert oder mindestens stark verzögert wird. Der ganze Vorgang ist analog dem Schmutztragevermögen einer Waschlauge.

Tabelle 18

Einfluss von Dodecylbenzolsulfonatzusatz auf Absorptionsmaximum und Extinktion

In 100 ml Endlösung waren enthalten:
4,3 mg Kartoffelstärke, 1,0 ml n-HCl, 1,5 ml 0,02-n J

	ohne DBS		mit 1 ml DBS 1%ig	
	Absorptions-maximum mμ	Extinktion (2 cm-Küvette)	Absorptions-maximum mμ	Extinktion (2 cm-Küvette)
Jodlösung eingetropft	590	1,102	565	1,075
Stärkelösung eingetropft	590	1,128	575	1,108
Farbe	rein blau		rötlich violett	
Beständigkeit	nach 1 Stunde leicht geflockt		nach 1 Stunde vollständig klar	

Durch den Zusatz von Dodecylbenzolsulfonat ändert die Färbung der Jodstärke von blauviolett nach rötlichviolett. Das Absorptionsmaximum verschiebt sich um ca. 20 mμ nach dem kürzeren Wellenlängenbereich, und gleichzeitig sinkt die Extinktion um 2 % des Wertes ohne DBS-Zusatz. Die Resultate sind in Tabelle 18 aufgeführt. Aus den Resultaten geht ebenfalls hervor, dass auch bei Zusatz von DBS die Reihenfolge der Reagenzienzusätze von Bedeutung ist. Beim Eintropfen der Stärkelösung in das Reagensgemisch erhält man höhere Extinktionen.

Bei den Versuchen in Tabelle 18 wurde die DBS-Lösung als erstes Reagens ins Messkölbchen gebracht. Fügt man sie erst am Schluss zur blauen Jodstärkelösung, so findet man etwas höhere Extinktionen.

Einfluss der DBS-Menge

Da Dodecylbenzolsulfonat das Absorptionsmaximum verschiebt und die Extinktion erniedrigt, musste noch der Einfluss der DBS-Konzentration auf die Farbintensität untersucht werden. Bei sonst genau gleichen Arbeitsbedingungen wurde lediglich die Menge der zugesetzten DBS-Lösung variiert. In 100 ml Endlösung waren je 4,3 mg Weizenstärke, 1,0 ml n Salzsäure und 1,5 ml 0,02n Jodlösung enthalten. Die Extinktionen, gemessen in 2-cm Küvetten bei 22° C, betrugen:

0,5 ml	DBS 1%ig	=	0,895
0,8	»	=	0,888
1,0	»	=	0,882
1,2	»	=	0,878
2,0	»	=	opalisierende Lösung
4,0	»	=	stark milchig getrübte Lösung

Kleine Aenderungen in der DBS-Konzentration sind ohne nennenswerten Einfluss auf die Extinktion. 1,0 ml 1%ige Lösung in 100 ml Endlösung erwies sich als optimal. Bei höheren Konzentrationen trübt sich die Lösung, weil Dodecylbenzolsulfonat durch Calciumchlorid ausgesalzt wird.

9. Temperatureinfluss

Die Temperatur hat einen merklichen, nicht zu vernachlässigenden Einfluss auf das Gleichgewicht der Jodstärke. Bei niedrigen Temperaturen erhält man intensivere Blaufärbungen, die beim Erwärmen allmählich blasser werden. Der Vorgang ist reversibel, so dass beim Abkühlen wiederum nahezu die ursprüngliche Intensität erreicht wird. Dieser Effekt lässt sich so erklären, dass das nur sehr labil durch adsorptive oder *van der Waals*sche Kräfte an Stärke angelagerte Jod bei steigender Temperatur vermutlich infolge der thermischen Bewegung immer mehr aus den kolloidalen Stärketeilchen (Amylosespiralen) herausgelöst wird.

Hollo und *Szejtli* [14]) konnten durch ampèrometrische Titrationen eindeutig nachweisen, dass in einem bei einer bestimmten Temperatur sich im Gleichgewicht befindenden System von Jodstärke-Kaliumjodid-Jod beim Erwärmen die Konzentration an freiem Jod in der Lösung ansteigt. Gleichzeitig ist eine Aufhellung der blauen Färbung zu beobachten.

Die in Tabelle 19 angegebenen 2 Versuchsreihen veranschaulichen den Einfluss der Temperatur auf die Extinktion unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen.

Tabelle 19

Temperaturabhängigkeit der Extinktion der Jodstärke

In 100 ml Endlösung waren enthalten: je 1,0 ml 0,1-n Salzsäure, 1,5 ml 0,02-n Jodlösung, 1,0 ml 1% DBS-Lösung.

	4,1 mg Kartoffelstärke		5,0 mg Bohnenstärke	
	Temperatur ° C	Extinktion	Temperatur ° C	Extinktion
	14	1,160	15	1,355
	18	1,122	18,5	1,324
	30	1,002	20,5	1,319
	14	1,166	24,5	1,250
			29,0	1,188
Grösste Differenz	16	0,158	14	0,165
Extinktions-unterschied pro ° C		0,0099		0,0118

Eine Temperaturabweichung von 1° C bewirkt demnach bereits einen Fehler von ca. 1 % der Extinktion. Hieraus folgt, dass bei kolorimetrischen Stärkebestimmungen die Temperatur möglichst konstant gehalten werden muss. Die Küvetten sind bis unmittelbar vor der Messung zu thermostatieren. Die Messungen sollen rasch ausgeführt werden, um Erwärmung der Lösung im Photometer zu vermeiden.

10. Einfluss der Reaktionszeit

Nach *McCready* und *Hassid* [25]), die allerdings in sehr verdünnten Lösungen arbeiten (1 mg Stärke in 100 ml), soll die Jodstärkelösung sofort ihre maximale Farbintensität erreichen und mehrere Tage konstant bleiben. Bei unseren Versuchsbedingungen nimmt die Intensität der Jodstärke beim Stehen der Lösung noch etwas zu und nähert sich asymptotisch einem Endwert, der nach etwa 45 bis 60 Minuten erreicht ist, wie nachstehende Zahlen zeigen.

100 ml Endlösung enthielten: 5,57 mg Weizenstärke (wasserfrei), 1,0 ml n HCl, 1,5 ml 0,02-n J, 1,0 ml DBS 1%ig.

Messung nach	Extinktion bei 585 mμ (2 cm)
5 Minuten	1,090
10 »	1,115
15 »	1,127
30 »	1,138
45 »	1,145
60 »	1,146
85 »	1,145

Die Blaufärbung bleibt meistens während mehreren Stunden ziemlich konstant. Trotzdem sollten die Lösungen nach einer Stunde photometriert werden, weil es hin und wieder vorkommt, dass sich nach mehrstündigem Stehen die Jodstärkelösung allmählich trübt oder dass Jodstärke ausflockt.

11. Gewinnung und Reinigung der Stärkearten für die Eichkurven

Für die Aufstellung der Eichkurven benötigten wir reinste native Stärken. Die im Handel befindlichen Stärkearten sind meistens nicht ganz rein. Zur weiteren Reinigung wurden die Stärken mit 3%iger Salzsäure gewaschen, geschlämmt und die wässerige Suspension durch ein feines Planktonnetz filtriert (Nylongaze). Anschliessend wurde die Stärke mit destilliertem Wasser chloridfrei gewaschen und an der Luft getrocknet. Einzelne Proben wurden ausserdem noch mit verdünnter Natronlauge und 0,3%iger Dodecylbenzolsulfonatlösung gewaschen, wie das bei den selbsthergestellten Leguminosenstärken beschrieben wird.

Erbsen- und Bohnenstärke sind im Handel nicht erhältlich. Wir haben sie aus weissen Bohnen bzw. gelben Erbsen selber isoliert. Die reifen, trockenen Samen wurden über Nacht in Wasser eingelegt und am nächsten Morgen die Samenschalen und Keimlinge weitgehend von Hand entfernt. Die stark gequollenen, halbierten Samen wurden hierauf zerkleinert (Fleischhackmaschine, elektrischer Mixer). Die Masse wurde auf ein über ein grosses Becherglas gespanntes Tuch gebracht und die freigelegte Stärke mit viel Wasser ausgewaschen und geschlämmt. Bei den weissen Bohnen erwies es sich als zweckmässig, die zerkleinerte Masse vor dem Schlämmen während mehrer Stunden mit 0,3%iger Natronlauge stehen zu lassen, um die Proteine weitgehend zu lösen. Erbsenstärke verträgt eine derartige intensive Laugenbehandlung nicht, weil die Stärkekörner schon in verdünnter Natronlauge verquellen. Die Stärke setzte sich nach etwa 15 Minuten im Becherglas ab, die überstehende trübe Lösung wurde abgegossen. Zur weiteren Reinigung wurde die Stärke mehrmals in viel Wasser und sehr verdünnter Natronlauge (Phenolphtalein eben rot) aufgeschlämmt. Proteine und andere Verunreinigungen lösen sich weitgehend in verdünnter Lauge. Anschliessend wurde die Stärke zuerst in 0,3%iger Dodecylbenzolsulfonatlösung, dann in 3%iger Salzsäure aufgeschlämmt und schliesslich mit destilliertem Wasser chloridfrei ausgewaschen und an der Luft getrocknet. Die auf diese Weise gewonnenen Stärken waren mikroskopisch rein.

Aus verschiedenen Kartoffelsorten bereits früher durch mehrfaches Schlämmen in Wasser gewonnene Stärken wurden ebenfalls in die Untersuchungen mit einbezogen.

12. Eichkurven

Unter den Bedingungen der endgültigen Arbeitsvorschrift des Abschnittes «Methodik» wurden die Eichkurven für verschiedene reine Stärkesorten aufgestellt. Von lufttrockener Stärke, deren Wassergehalt in einer gesonderten

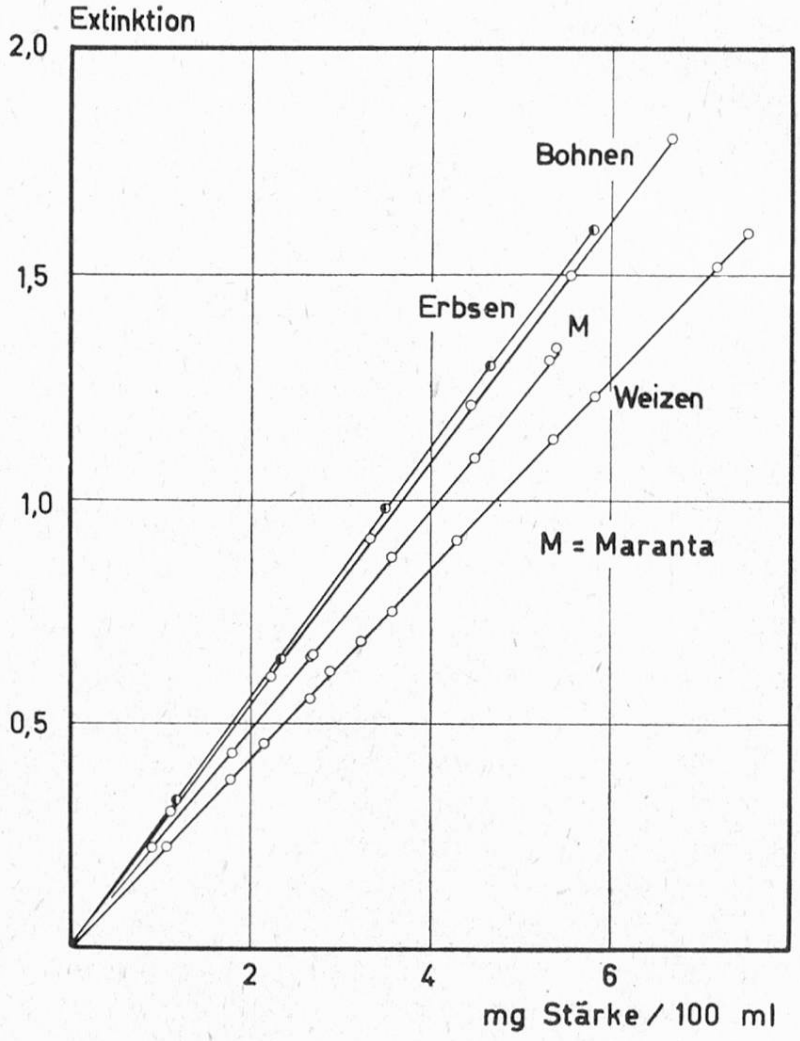

Fig. 3

Probe durch Trocknen bis zur Gewichtskonstanz bei 105° (6 bis 8 Stunden) ermittelt worden war, wurden 50 bis 60 mg auf ± 0,02 mg genau in Reagensgläser abgewogen. Durch 5 Minuten langes Kochen mit 40%iger Calciumchloridlösung (Puffer pH = 6,0) wurde die Stärke gelöst, abgekühlt, mit Wasser verdünnt, in einen 50 ml-Messkolben gespült, mit 2,5 ml n Salzsäure versetzt, zur Marke aufgefüllt und durch ein Schwarzbandfilter filtriert. Von diesem Filtrat (Stammlösung) wurden mittels einer Stabpipette steigende Mengen (1 bis 8 ml) tropfenweise unter ständigem Umschwenken zu dem im 100 ml-Messkölbchen vor-

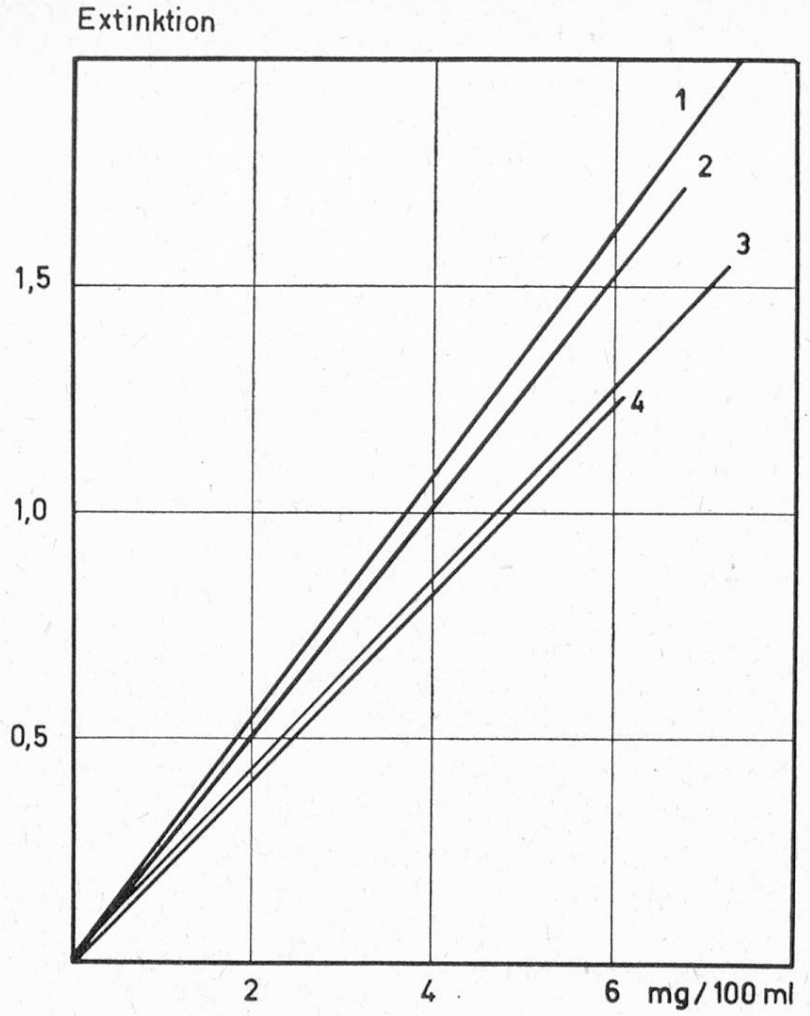

Fig. 4

1. Kartoffelstärke Sorte «Erstlinge»
2. Kartoffelstärke Sorte «Frühbote»
3. Maisstärke
4. Reisstärke

bereiteten Reagensgemisch zugegeben. Das Reagensgemisch im Messkolben bestand aus je ca. 70 ml Wasser, 1,0 ml n Salzsäure, 1,5 ml 0,02-n Jodlösung und 1,0 ml 1%iger Dodecylbenzolsulfonatlösung. Die Kolben wurden mit Wasser zur Marke aufgefüllt, bei gedämpftem Tageslicht bei 20° stehen gelassen und nach einer Stunde die Extinktion im Absorptionsmaximum der betreffenden Stärkeart (575 bis 590 mμ) in der 2-cm Küvette bei genau 20° gemessen.

Die Eichkurven (Figuren 3 und 4) sind durchwegs gut reproduzierbar und zeigen für alle Stärkearten einen ähnlichen Verlauf. Sie sind praktisch linear, lediglich bei hohen Stärkekonzentrationen haben sie die Tendenz, etwas steiler anzusteigen, d.h. schwach nach oben abzubiegen.

Die Kurven für die verschiedenen Stärkearten haben nicht alle die gleiche Neigung. Leguminosen- und Kartoffelstärken geben die steilsten Eichkurven.

Für Weizen- und Maisstärke verlaufen die Kurven bedeutend flacher. Dazwischen liegt Marantastärke. Dieser Befund lässt sich leicht erklären, wenn man berücksichtigt, dass die verschiedenen Stärkearten ungleiche Mengen an Amylose und Amylopektion enthalten und erfahrungsgemäss die unverzweigte Amylose mit Jod eine viel intensivere Färbung gibt als das Amylopektin.

Nach *Bonner* [23]) kann der Amylosegehalt der nativen Stärke zwischen 0 und 35 % schwanken. Er ist abhängig von der Pflanzenart, der Pflanzenvarietät, den Wachstumsbedingungen und vom Reifungsgrad. «Waxy Mais» (Klebreis) und «Waxy Gerste» enthalten keine Amylose. Kartoffel-, Weizen-, Tapioka- und Sagostärke sind ziemlich reich an Amylose (17 bis 27 %). Auch die Kettenlänge der Amylose, d.h. die Anzahl der Glucosemoleküle ist von Einfluss auf die Blaufärbung, da längere Amylosespiralen eine intensivere Jodfärbung verursachen. In Weizenamylose sind 420 Glucosemoleküle, in Kartoffel- und Tapiokastärke ca. 980 Glucosemoleküle linear verkettet.

Nielsen und *Gleason* [26]) haben nach einer etwas anderen Methode (Perchlorsäureaufschluss) die Blauwerte für Kartoffelstärke und zahlreiche andere Stärkearten bestimmt. Sie nehmen Kartoffelstärke als Basis und berechnen für die anderen Stärkearten Umrechnungsfaktoren, mit denen sie die aus der Eichkurve für Kartoffelstärke abgelesenen Werte multiplizieren. Diese Faktoren stimmen zum Teil recht gut mit unseren eigenen, ebenfalls auf die Basis von Kartoffelstärke umgerechneten (in Klammern angegebenen) Werten überein.

	Umrechnungsfaktor	
Kartoffelstärke	1,00	(1,00)
Bohnen	0,99 — 1,06	(0,99)
Erbsen	0,53 — 0,59	—
Erbsen Var. Alaska	0,92	(gelbe 0,93)
Erbsen Var. Early Sweet	1,18	—
Weizen	1,26	(1,23)

Für unsere Bedürfnisse wählten wir eine etwas andere Art von «Berechnungsfaktoren». In Tabelle 20 sind die Absorptionsmaxima und die von uns ermittelten Faktoren für verschiedene Stärkearten aufgeführt. Die Faktoren geben an, wie viele Milligramm Stärke einer Extinktion von 1,00 unter den in der Vorschrift definierten Versuchsbedingungen entsprechen. Man hat demnach nur die gemessene Extinktion mit dem Faktor der betreffenden Stärkeart zu multiplizieren und erhält die Stärkemenge in mg pro 100 ml Endlösung. Diese Faktoren, die dem Extinktionsmodul umgekehrt proportional sind, können aber schon innerhalb der gleichen Stärkeart beträchtlich variieren. So beobachteten wir bei Kartoffelstärke, dass die aus der Sorte Frühbote gewonnene Stärke die schwächste Blaufärbung ergab. Sie erreichte nur 95 % der Intensität der Kartoffelstärke der Sorte «Erstlinge».

Tabelle 20

Absorptionsmaxima und Berechnungsfaktoren für verschiedene native und vorgekochte Stärkearten

Stärkeart	Absorptions-maximum mμ	Faktor Extinktion = 1,000 entspr. mg Stärke (2 cm-Küvette)
Native Stärken		
Kartoffelstärken		
Sorte Erstlinge	575	3,69
» Ideal	575	3,75
» Bintje	575	3,87
» Saskia	575	3,89
» Frühbote	575	3,95
Erbsenstärke aus gelben glatten USA-Erbsen	590	3,58
Bohnenstärke aus weissen Bohnen	590	3,80
Marantastärke (Handelsprodukt, gereinigt)	575	4,12
Weizenstärke »	585	4,73
Reisstärke »	580	4,84
Maisstärke »	580	4,70
Manihotstärke »	570	4,95
Vorgekochte Stärken		
Tapiokastärke	580	5,17
Kartoffelstärke, holländische	575	3,61
Kartoffelstärke	575	4,43
Maisstärke	575	4,24

Wir haben auch einige sogenannte vorgekochte Stärkearten kolorimetrisch untersucht und die Faktoren bestimmt. Aus den Resultaten in Tabelle 20 erkennt man, dass die Berechnungsfaktoren für die vorgekochten Stärken fast durchwegs höher sind, d.h. die Blaufärbung ist schwächer als bei den nativen Stärken.

Durch die fabrikmässige physikalisch-chemische Behandlung der Stärke wird offenbar die Kettenlänge der Amylose-Molekeln verkürzt, was eine schwächere Jodfärbung zur Folge hat.

Eine lösliche holländische Kartoffelstärke ergab einen auffallend hohen Blauwert (niedriger Berechnungsfaktor). Möglicherweise handelt es sich hier um eine von Natur aus extrem amylosereiche Stärke.

Die kolorimetrische Methode unterscheidet sich hinsichtlich Spezifität und Anwendungsmöglichkeiten wesentlich von der titrimetrischen Methode. Während sich unter den Bedingungen dieser letzteren Methode alle Stärkearten ganz ähnlich verhalten, indem die Stärke praktisch quantitativ als Jodstärke ausgeschieden und bestimmt wird, müssen bei der kolorimetrischen Methode für jede

Stärkeart die charakteristische Eichkurve oder der entsprechende Faktor benützt werden.

Die kolorimetrische Methode eignet sich besonders für Serienuntersuchungen ähnlicher Proben. Sie ist einfach und rasch durchführbar und liefert gute reproduzierbare, aber nicht immer absolute Werte.

13. Anwendung auf Lebensmittel

Beim Versuch, die kolorimetrische Methode auf Lebensmittel anzuwenden, stiessen wir auf neue unerwartete Schwierigkeiten. Während sich die Eichkurven mit reinen Stärkearten genau reproduzieren lassen, erhielten wir für Halbweiss- und Weissmehl, den einfachsten Produkten, zunächst viel zu niedrige Werte. Der Grund liegt darin, dass Weizenmehle reduzierende Stoffe enthalten, die ebenfalls in die Calciumchloridlösung gelangen. Bei der anschliessenden Farbreaktion wird dann ein Teil der zugesetzten Jodlösung verbraucht. Weil die Intensität der Jodstärke stark vom Jodüberschuss abhängig ist, entsteht als Folge davon eine schwächer gefärbte Lösung.

Diese Störung lässt sich elegant beheben, wenn man das Untersuchungsmaterial bereits während der Vorbehandlung mit Jodlösung versetzt, wobei die reduzierenden Stoffe beseitigt werden. Eine einfache Vorbehandlung mit 60 %igem Alkohol genügt somit nicht. Bei Backwaren, wo von Anfang an die kompliziertere Vorbehandlung mit kochender DBS-Lösung und anschliessendem Jodzusatz durchgeführt wurde, haben wir sogleich richtige Resultate gefunden. Diese Verhältnisse sind in Tabelle 21 wiedergegeben. Nach einer Vorbehandlung mit reinem 60%igen Alkohol findet man um rund 10 % zu niedrige und ziemlich stark schwankende Werte. Wird das Untersuchungsmaterial bei der Vorbehandlung mit Jod versetzt, so liefert die kolorimetrische Methode richtige Werte, die gut mit den titrimetrisch oder polarimetrisch ermittelten übereinstimmen. Es ist noch zu erwähnen, dass in einem aliquoten Teil der Filtrate, die man nach der Vorbehandlung mit 60%igem Alkohol (ohne Jod) erhielt, die Stärke auch titrimetrisch ermittelt wurde. Diese Methode gab richtige Resultate.

Bei reiner Stärke, wie sie für die Ermittlung der Eichkurven benützt wurde, spielt es keine Rolle, ob man eine Vorbehandlung mit Jod durchführt oder ob die Stärke ohne jegliche Vorbehandlung mit Calciumchloridlösung gekocht wird, wie folgende Zahlen zeigen.

Kartoffelstärke (Saskia)

ohne Vorbehandlung: Berechnungsfaktor = 3,89 mg

nach Vorbehandlung:

1mal mit 10 ml 60%igem Alkohol + 1 ml 0,1-n J kalt
2mal mit je 10 ml 60%igem Alkohol kalt nachgewaschen

Berechnungsfaktor = 3,88 mg

Tabelle 21

Kolorimetrische Stärkebestimmung in Mehl nach verschiedenartiger Vorbehandlung

(Stärkegehalt in der Trockensubstanz)

Serie	Vorbehandlung	Weissmehl %	Halbweissmehl %
I	1mal mit 10 ml 0,02-n essigsaurem 60%igem Alkohol	72,6	69,2
		73,0	70,1
	2mal mit 10 ml 60%igem Alkohol	74,8	68,6
		75,7	68,5
II	1mal mit 10 ml 0,2-n essigsaurem 60%igem Alkohol	82,9	77,3
			77,0
	1mal mit 10 ml 60%igem Alkohol + 1 ml 0,1-n J		
	1mal mit 10 ml 60%igem Alkohol		
III	1mal mit 10 ml Aether	80,8	76,4
	1mal mit 3,5 ml DBS 3 Minuten gekocht, dann 0,5 ml 0,1-n J + 6 ml Alkohol abs.		
	1mal mit 10 ml 0,02-n essigsaurem 60%igem Alkohol		
	1mal mit 10 ml 60%igem Alkohol		
	Titrimetrische Methode (Mittel aus 8 Bestg.)	80,4 ± 0,7	76,2 ± 0,8
	Polarimetrische Methode (Mittel aus 2 bzw. 3 Bestimmungen)	83,7	78,4

Bei zahlreichen Lebensmitteln erhält man nach Vorbehandlung und Aufschluss meistens schwach opalisierende Filtrate, während mit den gereinigten Stärkearten praktisch klare Stärkelösungen erzielt werden. Bei der Bestimmung der Extinktion der Jodstärkelösung wird selbstverständlich auch die durch die Trübung verursachte Lichtabsorption gemessen. Diesen Fehler kann man ausschalten, indem man unmittelbar nach der Messung der Extinktion der blauen Jodstärkelösung einen Tropfen 5%ige Natriumthiosulfatlösung in die Küvette bringt, gut mischt und sogleich die Extinktion der entfärbten Lösung misst. Sie entspricht der Lichtabsorption, die durch gewisse Verunreinigungen (Opaleszenz) verursacht wird. Diese Korrektur wird von der Gesamtextinktion subtrahiert. Sie ist meistens unbedeutend und beträgt etwa 1 % der Gesamtextinktion. Nur bei Produkten, die sehr wenig Stärke enthalten, wie beispielsweise Senf, fällt sie stärker ins Gewicht und kann bis zu 10 % ausmachen.

Die kolorimetrische Methode, wie sie im Abschnitt Methodik angegeben ist, wurde auf über ein Dutzend verschiedenartiger Lebensmittel angewendet. Sie verlief durchwegs störungsfrei. Die Resultate sind in der Tabelle 29 aufgeführt.

III. Polarimetrische Stärkebestimmung

Die im Lebensmittelbuch angegebene polarimetrische Stärkebestimmungsmethode von *Baumann* und *Grossfeld* [3]) geht zurück auf das im Jahre 1908 von *Ewers* [27]) veröffentlichte Verfahren. Die eigentlichen Versuchsbedingungen, unter denen die Stärke mit Salzsäure gelöst wird, sind bei beiden Methoden gleich. *Baumann* und *Grossfeld* haben lediglich die Klärung abgeändert und die Anwendbarkeit der Methode dadurch erweitert, dass sie für die Blindprobe eine Vorbehandlung mit Tannin und Bleiessig einführten. Dadurch wird lösliche Stärke ausgefällt, und die Methode ist auch auf Produkte mit verkleisterter, wasserlöslicher Stärke, wie Backwaren, anwendbar.

Hadorn und *Biefer* [2]) haben die von *Baumann* und *Grossfeld* eingeführte Klärung mittels Natriumphosphorwolframat durch die elegantere *Carrez*-Klärung ersetzt, weil dadurch leichter filtrierbare Lösungen erhalten werden, ohne dass die optischen Drehungen ändern. Zum gleichen Ergebnis kamen unabhängig von uns auch *Zelenka* und *Kopriva* [28]). Nach diesen Autoren soll bei der Klärung mit Bleiessig oder Natriumphosphorwolframat oder Natriummolybdat je nach der Menge des zugesetzten Klärmittels die Drehung der Stärkelösung erniedrigt werden, während sie durch die *Carrez*-Klärung nicht beeinflusst wird. *Ewers* hat in grundlegenden, sorgfältigen Versuchen die spezifische Drehung verschiedener Stärkearten bestimmt. *Baumann* und *Grossfeld* empfehlen zur Berechnung der Resultate einen mittleren Faktor 5,444, den sie aus *Ewers* Werten berechnen. Mittlere spezifische Drehung $[\alpha]^{D}_{20^0} = 183{,}7$.

Die spezifischen Drehungen der reinen Stärkearten sind weder von *Baumann* und *Grossfeld* noch von anderen Autoren überprüft worden, offenbar, weil die Arbeit von *Ewers* zahlreiche Beleganalysen enthält und sehr gründlich ausgeführt worden ist.

Zur Kontrolle unserer neuen titrimetrischen und kolorimetrischen Methoden benützten wir das polarimetrische Verfahren. Dabei ergaben sich ganz unerwartete Unstimmigkeiten, so dass sich eine gründliche Ueberprüfung der polarimetrischen Methode aufdrängte.

1. Spezifische Drehung von reiner Stärke

Um die Stärke überhaupt in filtrierbare, klare Lösung zu bringen, muss sie leicht abgebaut werden. Durch verdünnte Salzsäure und 15 Minuten langes Erhitzen im kochenden Wasserbad unter den von *Ewers* angegebenen Bedingungen wird die Stärke vollständig gelöst, aber bereits merklich abgebaut. In konzentrierter Calciumchloridlösung nach der schonenderen Methode von *Mannich* und *Lenz* [4]) beträgt die spezifische Drehung von Kartoffelstärke $[\alpha]^{D}_{20} = 200$. Nach weiteren Angaben von *Ewers* variiert die spezifische Drehung je nach Stärkeart und Salzsäurekonzentration. In der verdünnteren Salzsäure (0,42 %),

die *Ewers* für Kartoffelstärke vorschlägt, beträgt $[\alpha]_{20}^{D} = 195{,}4$. Kartoffelstärke, unter gleichen Bedingungen wie Getreidestärke, in etwas stärkerer Salzsäure (1,124 %) behandelt, ergibt $[\alpha]_{20}^{D} = 185{,}7$. Je intensiver die Säurebehandlung, um so weiter schreitet die Hydrolyse fort. Es bilden sich Dextrine mit geringerem Drehvermögen, und als Endprodukt entsteht schliesslich Glucose mit $[\alpha]_{20}^{D} = 52$. Die polarimetrische Methode ist demnach ebenfalls eine empirische Methode. Die einmal gewählten Hydrolysebedingungen müssen bei allen Versuchen peinlich genau eingehalten werden.

Zunächst haben wir einige reine Handelsstärken polarimetrisch untersucht. Wir arbeiteten genau nach dem früher von *Hadorn* und *Biefer* modifizierten Verfahren, bei dem mit Ausnahme der Klärung alle Versuchsbedingungen unverändert von *Baumann* und *Grossfeld* übernommen worden sind. Die Resultate sind in Tabelle 22 zusammengestellt. Es fällt sofort auf, dass die spezifischen Drehungen beträchtlich vom Mittelwert (183,7°) abweichen, den *Baumann* und *Grossfeld* ihren Berechnungen zu Grunde legen (Unterschiede bis zu 4 %). Auch ist die Reproduzierbarkeit der Resultate nicht befriedigend. Die relative Standardabweichung beträgt bis zu 1,9 %. *Ewers* hat in seiner Publikation sehr schön reproduzierbare Werte erhalten. Es muss daraus geschlossen werden, dass die Vorschrift zu wenig genau festgelegt worden ist, so dass noch Spielraum für individuelle Abänderungen bleibt, die zu schwankenden Resultaten führen.

Wie im folgenden gezeigt wird, hängt die Drehung der Stärke in verdünnter Salzsäure von verschiedenen Faktoren ab. Einen beträchtlichen Einfluss haben die Salzsäurekonzentration, die Erhitzungszeit und die Temperatur, die man alle möglichst konstant halten muss. Ferner sind wichtig die Geschwindigkeit des Aufheizens und Abkühlens der Flüssigkeit.

Zahlreiche stärkehaltige Substanzen neigen beim Anrühren mit Wasser zur Klumpenbildung. Dass die in einem Klumpen eingeschlossene Stärke dem Angriff der Salzsäure nicht in gleicher Weise zugänglich ist wie in fein suspendiertem Material, ist naheliegend. Aber selbst wenn das Material ursprünglich gleichmässig in der Salzsäure suspendiert war, beobachtet man oft (besonders bei Stärkemehlen) kurze Zeit nach dem Einstellen des Kölbchens in das siedende Wasserbad eine starke Verdickung oder Gelierung des Untersuchungsmaterials. Diese gelartigen Teile lösen sich erst allmählich wieder auf. Wir haben beobachtet, dass diese Klumpen- oder Gelbildung zu Streuungen Anlass geben.

Die Klumpenbildung lässt sich völlig vermeiden, wenn man zuerst die Hälfte der vorgeschriebenen Salzsäure in das Messkölbchen gibt und dann das staubfein gemahlene Untersuchungsmaterial unter Umschwenken portionenweise einträgt. Die Gelbildung während des Erhitzens wird vermieden, wenn man das Kölbchen im gut siedenden Wasserbad während der ersten 3 Minuten *ununterbrochen* umschwenkt. Auf diese Weise lässt sich die Streuung der Methode stark vermindern.

Tabelle 22

Drehwerte und Faktoren für diverse Stärkearten nach Methode Grossfeld

nach altem Verfahren [2]); Einwaage 5,00 g Stärke pro 100-ml Messkölbchen; Salzsäurekonzentration 0,31-n

Stärkeart	Trocken-substanz %	Drehung im 2 dm-Rohr	Spezifische Drehung	Mittl. spez. Drehung (in Klammern Werte von *Ewers*)	Standard-abweichung s	Berechnungs-faktor (Mittelwert)	Abweichung vom Gross-feldschen Faktor: F = 5,444 %
Weizenstärke	88,85	15,55	175,0				
		15,53	174,8	**176,3**	1,8	5,671	+ 4,2
		15,83	178,2	(182,7)	= 1,0 %		
		15,76	177,4				
Maisstärke	87,55	15,42	176,2				
		15,39	175,8	**177,0**	3,5	5,652	+ 3,8
	86,71	15,25	175,8	(184,6)	= 1,9 %		
	88,72	15,98 *)	180,1				
Kartoffelstärke	85,24	15,45	181,2				
		15,40	180,7	**181,9**	1,0	5,504	+ 1,1
		15,40	180,7	(185,7)	= 0,54 %		
	84,71	15,60 *)	184,2				
Manihotstärke	86,74	15,84	182,7	**182,6**	—	5,477	+ 0,6
		15,83	182,5				
Marantastärke	97,67	15,91	181,5				
		15,93	181,7	**180,1**	2,5	5,551	+ 2,0
	84,93	15,05	177,2		= 1,4 %		
Reisstärke	86,70	15,35	177,0	**178,2**	—	5,617	+ 3,2
		15,55	179,3	(185,9)			

Die mit Akkoladen verbundenen Werte sind Resultate von Parallelbestimmungen aus einer Versuchsserie, wobei die Kölbchen gleichzeitig im Wasserbad erhitzt wurden.

*) Werte aus der Arbeit von *Hadorn* und *Biefer* [2]) entnommen.

Wichtig sind sogar Form und Grösse des benutzten Wasserbades. In einem geräumigen Wasserbad, das ununterbrochen kräftig siedet, findet man andere Werte als in einem kleineren Wasserbad (offener Becher), in welchem das Wasser nach dem Eintauchen des Kölbchens während einiger Zeit zu sieden aufhört. In Tabelle 23 sind die spezifischen Drehungen für Mais- und Weizenstärke zusammengestellt, die alle mit 0,31-n Salzsäure und 15 Minuten Erhitzungszeit im Wasserbad erhalten wurden. Bei all unseren früheren Untersuchungen benützten wir ein grosses elektrisches Wasserbad und stellten die mit Bleiringen beschwerten Kölbchen hinein, so dass der Bauch des Kölbchens völlig im Wasser eingetaucht und der Kolbenhals zum grössten Teil vom Dampf umspült wurde. Das Sieden wurde nie unterbrochen. Die Versuche Nr. 3 und 4 in Tabelle 23 ergaben niedrigere spez. Drehungen, als *Ewers* sie angibt. Die Abweichung beträgt 3 bis 6 %. Benützt man dagegen ein kleineres offenes Wasserbad, z.B. ein Becherglas oder einen Emailbecher, so findet man höhere Werte, die erstaunlich gut mit denjenigen von *Ewers* übereinstimmen. Durch den Unterbruch im Sieden wird die Flüssigkeit im Kölbchen langsamer aufgeheizt und als Folge davon die Stärke etwas weniger abgebaut.

Um gut reproduzierbare Werte zu erhalten, ist es nötig, die Arbeitsvorschrift genau bis auf Einzelheiten festzulegen. Am einfachsten ist es, ein genügend grosses Wasserbad zu verwenden, in welchem das Sieden nie unterbrochen wird, die Kölbchen möglichst weit einzutauchen und das Wasserbad zuzudecken. Das Verfahren bleibt im übrigen gleich wie von *Ewers* bzw. *Baumann* und *Grossfeld* angegeben. Der Vollständigkeit halber untersuchten wir noch den Einfluss der Säurekonzentration und der Erhitzungszeit.

Tabelle 23

Einfluss der Erhitzungsart auf die spezifische Drehung

(mit 0,31-n HCl während 15 Minuten erhitzt)

Nr.	Methode	Maisstärke	Weizenstärke
1	*Ewers* [26]) Originalwerte für Reinstärke *)	184,6	182,7
2	*Grossfeld* (Mittelwerte von *Ewers* übernommen)	183,7	183,7
3	Eigene Werte nach Methode *Grossfeld* bestimmt **)	177,0	176,3
4	Nach neuer standardisierter Methode **)	177,5	177,5
5	Erhitzt im kleinen offenen Wasserbad (Becher)	184,2	180,8

*) Reinstärke = Trockenmasse von Handelsstärke nach Abzug von Protein, Fett, Rohfaser und Asche.
**) Werte für gut gereinigte und gesiebte Handelsprodukte, berechnet auf Trockensubstanz.

2. Einfluss der Salzsäurekonzentration

Um den Einfluss der Säurekonzentration zu studieren, wurden Versuchsreihen mit 0,2-n, 0,3-n und 4,0-n Salzsäure angestellt, wobei die Erhitzungszeit im Wasserbad stets genau 15 Minuten betrug. Für jede Konzentration wurden 3 bis 4 voneinander unabhängige Versuche durchgeführt. Die in Tabelle 24 aufgeführten Drehungen sind Mittelwerte aus je 4 oder 5 Polarimeterablesungen. Die Versuche zeigen, dass mit zunehmender Säurekonzentration die Drehung beträchtlich abnimmt. In stärker saurer Lösung erfolgt die Hydrolyse zu niedriger molekularen, optisch weniger aktiven Verbindungen wesentlich rascher. Die vorgeschriebene Salzsäurekonzentration muss daher ziemlich genau eingehalten werden. Eine Abweichung der vorgeschriebenen Normalität (0,31-n) um 10 % nach unten bewirkt einen relativen Fehler von ca. + 1,0 % im Stärkegehalt; eine Abweichung um 10 % nach oben einen solchen von — 1,3 %.

Tabelle 24

Einfluss der Säurekonzentration auf die Drehung von Maisstärke

Trockensubstanz der Stärke: 88,28 %; Einwaage: 5,00 g in 100 ml Kölbchen

Konzentration der Salzsäure	Drehung 2 dm-Rohr	Spezifische Drehung	Mittelwert	Standardabweichung s	Faktor	Mittlerer Faktor
0,2-n	16,30	184,6			5,416	
	16,38	185,5	**184,0**	1,3	5,390	5,433
	16,12	182,6		(= **0,7** %)	5,475	
	16,19	183,4			5,451	
0,3-n	15,65	177,3			5,641	
	15,85	179,5	**179,1**	1,7	5,569	5,585
	15,99	181,2		(= **0,95** %)	5,518	
	15,72	178,2			5,612	
0,4-n	14,78	167,4			5,973	
	15,36	174,1	**170,1**	3,4	5,745	5,879
	14,91	168,9		(= **2,0** %)	5,918	

Mit steigender Säurekonzentration nimmt die Streuung der Werte beträchtlich zu. Es wäre demnach angezeigt, die Salzsäurekonzentration möglichst niedrig zu wählen. Wir sind jedoch bei der von *Baumann* und *Grossfeld* angegebenen Konzentration von 0,31-n geblieben, um die seit Jahrzehnten eingeführte und allgemein gebräuchliche Methode nicht mehr als unbedingt nötig zu verändern.

3. Einfluss der Erhitzungszeit

Wir haben die Erhitzungszeit im Wasserbad zwischen 10 und 50 Minuten variiert, während im übrigen genau nach der im Abschnitt «Methodik» beschriebenen standardisierten Vorschrift verfahren wurde. Aus den Resultaten in Tabelle 25 ergibt sich eine deutliche Abnahme der Drehung bei längerer Erhitzungszeit. Berechnet auf die normale Erhitzungszeit von 15 Minuten, verursacht eine Verkürzung um eine Minute einen relativen Fehler von + 0,6 % und eine Verlängerung um eine Minute einen solchen von — 1,0 %. Es ist daher wichtig, die vorgeschriebene Zeit genau einzuhalten. Die Angabe von *Hadorn* und *Biefer* [2]), wonach eine Verlängerung der Erhitzungszeit von 15 auf 20 Minuten keinen Einfluss habe, muss auf einem Irrtum beruhen. Weil die Erhitzungszeit eine bedeutende Rolle spielt, sind auch die Geschwindigkeit des Aufheizens und Abkühlens von merklichem Einfluss.

Wie bereits erwähnt, ist die Stärkesuspension zu Beginn des Versuchs unmittelbar nach dem Eintauchen ins Wasserbad während des Umschwenkens noch kurze Zeit dünnflüssig. Die Stärke verkleistert aber rasch, und die Lösung geliert innert einer Minute zu einer nahezu festen Masse. Schwenkt man das Kölbchen weiter um, so wird die Schicht des Kleisters an der Glaswand allmählich dünner,

Tabelle 25

Einfluss der Erhitzungszeit im Wasserbad auf die Drehung von Weizenstärke

Trockensubstanz der Stärke: 89,26 %; Salzsäurekonzentration: 0,31-n

Erhitzungszeit in Minuten	Drehung	Spezifische Drehung	Mittelwert	Standardabweichung s	Mittlerer Faktor
10	16,21	181,6			
	16,22	181,7	**181,7**	0,1	5,503
	16,23 *)	181,8		(= **0,06** %)	
15	15,88	177,9			
	15,91	178,2			
	15,78	176,8	**177,5**	0,76	5,635
	15,75	176,5		(= **0,43** %)	
	15,89 *)	178,0			
20	14,96	167,6			
	14,97	167,7	**167,9**	0,38	5,957
	15,02 *)	168,3		(= **0,23** %)	
30	13,65	152,9	—	—	6,540
40	11,85	132,8	—	—	7,531
50	10,54	118,1	—	—	8,467

*) Diese Versuche wurden in 100 ml Messkölbchen mit 5 g Stärke ausgeführt; alle anderen in 50 ml Kölbchen mit 2,5 g Stärke.

und unter andauerndem intensivem Schwenken wird der ganze Kleister langsam, meistens nach etwa 2 Minuten, wieder dünnflüssig. Schwenkt man nicht oder nicht genügend um, so bleibt der Kleister längere Zeit fest, was Anlass zu schwankenden Resultaten gibt. Es soll darum vom Moment an, wo das Messkölbchen in das gut siedende Wasserbad eingetaucht wird, während 3 Minuten ununterbrochen und nicht nur gelegentlich umgeschwenkt werden. Nach 15 Minuten Erhitzungszeit wird das Kölbchen aus dem Wasserbad genommen und möglichst rasch unter Umschwenken in fliessendem Wasser auf Zimmertemperatur abgekühlt.

In dieser Standardisierung der Arbeitsweise liegt wahrscheinlich auch der Grund, weshalb die Streuung der Versuche in Tabelle 25 kleiner ist als in Tabelle 22, wo auf den Einfluss des ununterbrochenen Umschwenkens zu wenig geachtet worden ist.

4. Stabilität der Stärkelösung in Salzsäure

Nachdem die mit Säure behandelte und nach *Carrez* geklärte Lösung filtriert war, wurde anschliessend die Drehung bestimmt. Die Werte, welche in Tabelle 20 angeführt sind, wurden sofort nach dem Filtrieren abgelesen. Zur Ueberprüfung, ob sich die Drehung im Verlaufe der Zeit ändert, wurden dieselben Lösungen 17 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und nochmals gemessen. Alle Werte blieben unverändert, womit die Stabilität dieser Lösungen während 17 Stunden nachgewiesen ist.

5. Standardisierte Methode

Wir haben für unsere Versuche die Einwaage und Säuremenge auf die Hälfte reduziert und statt 100 ml Messkölbchen 50 ml Messkölbchen verwendet. Die Konzentration bleibt gleich, das Aufwärmen und Abkühlen kann jedoch rascher erfolgen.

Die Frage, ob die Anwendung von 50 ml Messkölbchen, statt 100 ml Messkölbchen, auf die Resultate einen Einfluss hat, wurde ebenfalls untersucht. In Tabelle 25 sind die in 100 ml Messkolben gefundenen Werte mit *) bezeichnet. Sie liegen durchwegs innerhalb der Versuchsstreuung der übrigen Werte. Das Arbeiten mit dem halben Ansatz liefert somit die gleichen Resultate.

Auf Grund unserer Untersuchungen haben wir das polarimetrische Verfahren besser standardisiert. An den Versuchsbedingungen, wie Salzsäurekonzentration und Erhitzungszeit, wurde nichts abgeändert, sondern lediglich die einzelnen Handgriffe so beschrieben, dass sie weniger Spielraum für Fehler offen lassen. Alle weiteren Versuche wurden nach dieser standardisierten Vorschrift, die sich am Schluss dieser Arbeit befindet, ausgeführt.

Die ermittelten Drehungen für diverse Stärkearten nach diesem standardisierten Verfahren sind in Tabelle 26 aufgeführt.

Tabelle 26

Drehungen und Faktoren für diverse Stärkearten (Handelsprodukte) nach standardisierter Vorschrift

Stärkeart	Trocken-substanz %	Drehung	Spezifische Drehung	Mittelwert	Standard-abweichung s	Mittlerer Faktor
Weizenstärke (Epifin)	89,26	15,88 15,91 15,78 15,75 15,89	177,9 178,2 176,8 176,5 178,0	**177,5**	0,76 (= **0,43** %)	5,635
Maisstärke (Sirona)	88,28	15,70 15,64 15,66 15,66 18,85*)	177,8 177,1 177,4 177,4 177,9	**177,5**	0,33 (= **0,19** %)	5,635
Gereinigte Maisstärke (andere Lieferung)	88,46	15,52	175,4	—	—	5,700
Kartoffelstärke	82,06	14,93 14,90	182,0 181,6	**181,8**	—	5,501
Manihotstärke (Blattmann)	86,73	15,63 15,64	180,2 180,1	**180,2**	—	5,551
Marantastärke	87,63	15,86 15,84	181,0 180,8	**180,9**	—	5,528
Reisstärke (Hoffmann)	86,70	15,31 15,32	176,6 176,7	**176,7**	—	5,661
Gereinigte Reisstärke (Hoffmann)	85,96	15,22	177,1	—	—	5,648
Stärke aus gelben Erbsen (selbst hergestellt)	90,54	16,02	177,9	—	—	5,652
Stärke aus weissen Bohnen (selbst hergestellt)	86,06	15,20	176,6	—	—	5,662

*) Einwaage 3,0 g

Ewers berechnet seine Faktoren für sogenannte «Reinstärke». In den handelsüblichen Stärkesorten hat er den Wassergehalt und alle Verunreinigungen, wie Eiweiss, Fett, Asche und Rohfaser, bestimmt. Die Differenz zu 100 % bezeichnet er als «Reinstärke». Die Summe der Verunreinigungen beträgt nach Analysen von *Ewers* für die meisten Stärkearten 0,4 bis 0,6 %, in vereinzelten Handelsprodukten jedoch über 1 %.

Wir haben die spez. Drehung auf gut gereinigte, wasserfreie Stärke berechnet (Trocknung bei 105° bis zur Gewichtskonstanz). Da gewisse Mineralbestandteile, wie Phosphor, ins Stärkemolekül eingebaut sind, ist es nach dem heutigen Stand der Forschung wenig sinnvoll, dieselben vom Stärkegehalt zu subtrahieren.

Die Reproduzierbarkeit der Werte nach der standardisierten Methode ist wesentlich besser. Die relative Standardabweichung vom Mittelwert aus 19 Versuchen mit verschiedenen Stärken war nach dem alten Verfahren 0,88 %. Nach der neuen standardisierten Methode beträgt die relative Standardabweichung für die in Tabelle 26 aufgeführten Versuche 0,24 %.

Es zeigte sich weiter, dass die untersuchten Getreidestärken von Weizen, Mais und Reis nahezu die gleiche spezifische Drehung haben: 177,5, 177,5 und 176,7. Für die Berechnung der Stärke in Produkten, bei welchen die Getreideart nicht bekannt ist, kann man den Mittelwert $[\alpha]_{20}^{D} = 177{,}2$ oder den Faktor 5,642 verwenden, wodurch höchstens ein Fehler von ca. 0,3 % entstehen kann. Kartoffelstärke zeigt die höchste spezifische Drehung $[\alpha]_{20}^{D} = 181{,}8$.

Untersuchung von Lebensmitteln, Bedeutung der Blindprobe

Mittels der erhaltenen neuen Faktoren wurden nun die Stärkegehalte von verschiedenen Mehlen, Backwaren und anderen Produkten polarimetrisch ermittelt. Die Resultate sind in Tabelle 29 aufgeführt und mit denjenigen nach der titrimetrischen und polarimetrischen Methode verglichen.

Der Blindprobe kommt besondere Bedeutung zu, da man oft auffallend hohe Blindwerte findet, die zudem nicht immer gut reproduzierbar sind. Bei der alten Vorschrift werden die löslichen Stoffe während 15 Minuten unter häufigem Schütteln ausgelaugt, bei Gegenwart von Dextrin bis zu einer Stunde. Wenn dieses Auslaugen bei verkleisterten dextrinhaltigen Produkten so lange Zeit braucht, um die löslichen Stoffe vollständig aus dem Material herauszulösen, so können auch die Häufigkeit und Intensität des Schüttelns einen Einfluss auf das Endergebnis ausüben. Es ist daher besser, im letzteren Fall das Auslaugen während einer Stunde unter dauerndem Rühren, z.B. mit einem Magnetrührer, vorzunehmen. In allen andern Fällen reichen 15 Minuten Rühren aus. Wir haben auf diese Weise praktisch in allen Fällen etwas höhere Blindwerte gefunden als nach der alten Methode.

Die polarimetrische Methode kann aber nur bei Produkten angewendet werden, die keine Fermente enthalten. Bei Malzmehlen beispielsweise wird während des Auslaugens der Blindprobe unter der Wirkung der Amylasen Stärke verzuckert, und man findet viel zu hohe Blindwerte. Möglicherweise liesse sich dieser Fehler durch eine Inaktivierung der Fermente durch Queckksilberchlorid beheben, wie dies früher bei der Zuckerbestimmung in Weizenkeimen erfolgreich geschah [29]).

Die Klärung der Blindprobe nach *Baumann* und *Grossfeld* mit Tannin und Bleiessig zur Entfernung löslicher Stärke ist zudem etwas problematisch. Bei

gewissen Backwaren genügt die vorgeschriebene Menge Klärmittel nicht, um die lösliche Stärke vollständig zu entfernen. Das Filtrat gibt mit Jodlösung gelegentlich noch eine intensive blauviolette Färbung. Durch Erhöhung der Tannin- und Bleiessigmenge wird die lösliche Stärke vollständig entfernt; ob dabei nicht auch ein Teil der Dextrine vom Niederschlag adsorbiert wird, bleibt fraglich. Bei Backwaren darf aus diesem Grund von der polarimetrischen Methode keine allzu grosse Genauigkeit erwartet werden. Die titrimetrische Methode ist in diesen Fällen zuverlässiger.

IV. Vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Lebensmitteln

Die drei in den vorhergehenden Kapiteln eingehend überprüften Methoden sollen nun auf zahlreiche Lebensmittel angewendet und die Resultate miteinander verglichen werden. Vorerst soll eine Bilanz der gesamten in Mahlprodukten analytisch bestimmbaren Stoffe aufgestellt werden, um den aus der Differenz berechneten Stärkegehalt mit den experimentell ermittelten Werten zu vergleichen. Anschliessend folgen einige Analysen von Lebensmitteln, denen genau bekannte Mengen Stärke beigefügt worden sind. Schliesslich wird eine grössere Anzahl verschiedenartiger Lebensmittel des Handels analysiert und darin der Stärkegehalt nach den drei Methoden ermittelt.

1. Bilanz der Zusammensetzung verschiedener Mehle

Der genaue Stärkegehalt eines Lebensmittels ist in den wenigsten Fällen bekannt, und es ist daher schwer zu entscheiden, welche Methode die zuverlässigsten Werte liefert. Wir versuchten bei Weissmehl, Halbweissmehl und Maismehl eine Bilanz sämtlicher Bestandteile aufzustellen und den Stärkegehalt aus der Differenz zu berechnen (Tab. 27).

Wie schon *von Fellenberg* [31]) festgestellt hat, ist dies mit einigen Schwierigkeiten verbunden, weil sich nicht alle Bestandteile von Weizen- und Maismehl mit genügender Genauigkeit bestimmen lassen. Zuverlässig sind die Werte für Lipoide, Protein und Asche. Bei der Rohfaser nach *Bellucci* handelt es sich um die sog. ligninfreie Rohfaser. Es müsste noch ein Zuschlag für das Lignin gemacht werden. Den Zucker bestimmten wir nach einer für Weizenkeime ausgearbeiteten Methode [29]), wobei die Wirkung der Enzyme ausgeschaltet wurde. Ob der nach schwacher Hydrolyse als Saccharose berechnete Zuckergehalt richtig ist, oder ob bei der Inversion eventuell auch noch andere Saccharide oder wasserlösliche Pentosane hydrolysiert werden, ist fraglich. *Täufel, Romminger* und *Hirschfeld* [32]) haben durch papierchromatographische Untersuchungen bewiesen, dass von den wasserlöslichen Zuckern in Weizen die Saccharose vorherrscht (0,88 %). Daneben kommen noch geringe Mengen Maltose (0,04 %),

Glucodifructose (0,26), Raffinose (0,19) und noch 0,3 % nicht getrennte Saccharide vor. Bei der Aufstellung einer Bilanz würde allerdings ein Fehler bei der Zuckerbestimmung nicht stark ins Gewicht fallen, weil die Zuckergehalte relativ niedrig sind. Etwas problematisch scheint uns die Bestimmung der Pentosane zu sein, weil dafür noch keine einwandfreie Methode existiert. Wir arbeiteten nach der Methode *von Fellenberg* [33]), bei welcher das Untersuchungsmaterial mit Phosphorsäure unter Einleiten von Wasserdampf destilliert wird. Im Destillat wird das aus den Pentosanen gebildete Furfurol kolorimetrisch bestimmt.

Der Nachteil dieser Methode besteht darin, dass aus Stärke Oxymethylfurfurol entsteht, das dann bei der Farbreaktion (mit Anilin-Eisessig) Furfurol bzw. Pentosane vortäuscht. Am Resultat muss daher eine Korrektur angebracht werden, die bei Weissmehl das 3 bis 4fache des Pentosangehaltes ausmacht.

Fraser und *Holmes* [34]) haben bei eingehenden Mehlanalysen unter anderem auch den Pentosangehalt bestimmt. Sie arbeiteten nach einer neuen Methode [35]), bei welcher das durch Destillation gebildete Furfurol mit Orcin-Eisen-Reagens kolorimetrisch bestimmt wird. In Weissmehl mit weniger als 80 % Ausmahlung

Tabelle 27

Zusammensetzung und Bilanz von 3 untersuchten Mahlprodukten

(Werte auf Trockensubstanz berechnet)

	Weissmehl	Halbweissmehl	Maismehl
Gesamtlipoide (gereinigter Alkohol-Benzol-Extrakt)	1,36	1,85	2,48
Restlipoide nach Säureaufschluss des Extraktionsrückstandes	0,08	0,10	0,08
Asche (Lantannitrat)	0,46	0,80	1,04
Protein	11,95 [1])	14,75 [1])	7,78 [2])
Rohfaser (nach *Bellucci*)	0,10	0,36	0,73
Direkt reduz. Zucker (ber. als Invertzucker)	0,18	0,10	0,35
Saccharose	1,74	2,11	0,96
Pentosane	2,5	3,2	2,7
Stärke ber. aus Differenz («wahrer» Stärkegehalt)	**81,6**	**76,7**	**83,9**
Stärkegehalt gefunden			
titrimetrisch	80,3	75,8	79,9
kolorimetrisch	81,8	76,9	78,8
polarimetrisch	83,7	78,4	83,3

[1]) N · 5,8 [2]) N · 6,25

und Aschengehalten von 0,7 bis 0,8 % fanden sie 2,0 bis 2,1 % Pentosan. Unsere Werte liegen etwas höher, die Uebereinstimmung ist aber befriedigend.

Zur Bilanz in Tabelle 27 ist noch zu bemerken, dass im Untersuchungsmaterial gewisse nicht berücksichtigte Stoffe, wie beispielsweise organische Säuren oder spezielle Kohlenhydrate, fehlen können. Der «wahre» Stärkegehalt dürfte daher eher niedriger sein, als der aus der Differenz berechnete. Aus den Resultaten in Tabelle 27 erkennt man, dass bei Weissmehl und Halbweissmehl die titrimetrisch ermittelten Stärkegehalte ziemlich nahe an den «wahren» Stärkegehalt herankommen, während die polarimetrischen Werte etwas zu hoch sind. Nach den Modellversuchen mit reiner Stärke wäre zu erwarten, dass die polarimetrischen Werte bei Mahlprodukten sehr genau und richtig ausfallen.

Es gibt nur eine plausible Erklärung für zu hohe polarimetrische Werte: Man muss annehmen, dass gewisse in kaltem Wasser unlösliche Pentosane des Mehls beim Blindversuch nicht berücksichtigt werden. Im Hauptversuch dagegen werden sie unter der Einwirkung der heissen Salzsäure gelöst und teilweise hydrolysiert zu Arabinose oder Xylose. Da Pentosen stark rechtsdrehend sind, erhöhen sie den Drehwert merklich und täuschen einen zu hohen Stärkegehalt vor. (Spezifische Drehung von Arabinose: $[\alpha]_{20}^{D} = +191^{0}$)

2. Lebensmittel mit genau bekannten Stärkezusätzen

Besondere Bedeutung kommt der Stärkebestimmung in Lebensmiteln zu, denen kleine Stärkemengen als Verdickungsmittel zugesetzt worden sind. In diesen Fällen versagt die polarimetrische Methode fast immer. Wir haben zur weiteren Ueberprüfung unserer Methode einige Muster Senf und Leberpain untersucht, denen genau bekannte Mengen Stärke beigemischt wurden.

Von einer Gross-Schlächterei wurden für unsere Versuchszwecke spezielle Leberpain-Konserven hergestellt. Eine Probe entsprach der normalen Fabrikation. Die Ware enthielt Leber, Fett, Gewürze, Zwiebeln, Extrakte von Gemüsen, aber keinen Zusatz an stärkereichen Produkten. 2 weitere Proben der gleichen Grundmasse wurden mit 2 % bzw. 5 % Backmehl vermischt, dann in Dosen abgefüllt und wie üblich sterilisiert.

Als Senf benützten wir eine Tube eines bekannten Marken-Senfs, der garantiert ohne Stärkezusatz fabriziert worden war. Wir versetzten Proben davon mit genau bekannten Mengen Weizenmehl.

Die gefundenen Resultate sind in Tabelle 28 zusammengestellt. Man erkennt, dass bereits die ohne Mehlzusatz fabrizierte Leberpain-Konserve einen geringen Stärkegehalt von 0,2 bis 0,3 % aufweist. Möglicherweise handelt es sich dabei um Stärke, die mit den Gewürzen in die Konserve gelangte, eventuell täuscht auch das Glykogen der Leber etwas Stärke vor. Die in Form von Backmehl zugesetzte Stärke wurde mit befriedigender Uebereinstimmung in allen Fällen wiedergefunden. Die titrimetrisch und kolorimetrisch ermittelten Werte stimmen gut überein.

Tabelle 28

Analyse von Lebensmitteln mit genau bekanntem Stärkezusatz

Nr.	Bezeichnung	Zugesetzte Stärke %	Titrimetrische Bestimmung		Kolorimetrische Bestimmung	
			Stärkegehalt gefunden %	Sollwert = Summe : Leerversuch + zugesetzte Stärke	Stärkegehalt gefunden %	Sollwert = Summe : Leerversuch + zugesetzte Stärke
1	Leberpain ohne Mehlzusatz	0	0,36 0,23	0,30	0,19 0,19	0,19
2	Leberpain mit 2 % Backmehl [1])	1,38	1,47 1,63	1,68	1,44 1,64	1,57
3	Leberpain mit 5 % Backmehl [1])	3,47	3,53 3,48	3,77	3,64 3,54	3,66
4	Tafelsenf ohne Stärkezusatz	0	0,19 0,19	0,19	0,10 0,09	0,10
5	Tafelsenf mit 4,55 % Weissmehl [2])	3,28	3,26	3,47	3,18	3,38
6	Tafelsenf mit 4,05 % Weissmehl [2])	2,92	3,07	3,11	2,96	3,02
7	Kaltpudding mit Quellstärke und Phosphaten Mischung I	12,07	11,95	—	12,10	—
8	Kaltpudding (analog Nr. 7) Mischung II	12,23	12,33	—	12,36	—

[1]) Stärkegehalt des Backmehls
titrimetrisch = 68,6 %
kolorimetrisch = 70,0 %
Mittel 69,3 %

[2]) des Weissmehls
titrimetrisch = 71,4 %
kolorimetrisch = 72,6 %
Mittel 72,0 %

Beim Tafelsenf liegen die Verhältnisse ganz ähnlich. Bereits der reine, ohne Mehlzusatz fabrizierte Senf enthält eine Spur Stärke. In den mit Weissmehl vermischten Proben fanden wir nahezu den theoretischen Stärkegehalt.

Damit dürfte bewiesen sein, dass die titrimetrische und die kolorimetrische Methode bei Fleischkonserven (Pain), sowie bei Tafelsenf, denen zur Verdickung kleine Mengen Stärke beigemischt wurden, richtige Werte liefern.

Auch die in neuerer Zeit vielfach fabrizierten Kaltpuddingpulver, bestehend aus Mischungen von Quellstärke, Phosphaten, Zucker, Aromastoffen und Farbe, bereiten bei der Stärkebestimmung erhebliche Schwierigkeiten. Wie erwähnt, versagt hier die polarimetrische Methode vollständig. Wir haben zwei solcher Puddingmischungen von genau bekanntem Stärkegehalt (vorgekochte holländische Kartoffelstärke) im Laboratorium selber gemischt und analysiert. Nach unserer Methode lässt sich die Stärke sowohl titrimetrisch als auch kolorimetrisch recht genau bestimmen, wie aus den Versuchen 7 und 8 in Tabelle 28 hervorgeht.

3. Untersuchung verschiedener Lebensmittel des Handels

Die drei Methoden wurden nun auf zahlreiche stärkehaltige Lebensmittel des Handels angewendet. Die Resultate sind in den Tabellen 29 und 29a zusammengestellt und sollen kurz besprochen werden.

Im allgemeinen wurden nach allen 3 Methoden recht gut übereinstimmende Resultate gefunden. Jede Methode hat ihre Vor- und Nachteile und eignet sich nicht für jedes Produkt gleich gut.

Die polarimetrische Methode ist recht einfach und wird in der Praxis wohl am häufigsten angewandt. Sie ist für Mahlprodukte und andere stärkereiche Präparate, wie beispielsweise Kartoffelmehl, gut geeignet. Sie liefert gelegentlich unzuverlässige Resultate oder versagt vollständig, wenn das Untersuchungsmaterial grössere Mengen verkleisterter oder speziell wasserlöslich gemachte Stärke (sog. Quellstärke) enthält. Die Bestimmung des Drehwertes im Hauptversuch bereitet meistens keine Schwierigkeiten. Die stets notwendige Blindprobe, in welcher der Drehwert anderer optisch aktiver Stoffe, wie Zuckerarten, bestimmt wird, ergibt in diesen Fällen meistens stark schwankende Werte. Die in den wässerigen Auszug gelangte lösliche Stärke lässt sich durch die von *Baumann* und *Grossfeld* eingeführte Behandlung mit Tannin und Bleiessig nicht immer vollständig ausfällen. Präparate, die Quellstärke enthalten, geben beim Digerieren mit Wasser oft einen dicken Kleister, der sich weder filtrieren noch zentrifugieren lässt, so dass die Blindprobe gar nicht ausgeführt werden kann.

Die polarimetrische Methode ist rein empirisch, und jede Stärkeart gibt eine andere spezifische Drehung. Wenn die in einem Präparat verwendet Stärkeart nicht bekannt ist, muss man zur Berechnung eine mittlere spez. Drehung annehmen.

Die polarimetrische Methode ist nicht anwendbar auf Präparate, denen relativ wenig Stärke als Verdickungsmittel zugesetzt wurde, wie beispielsweise Fleisch- und Wurstwaren (Fleischpain) oder Senf. Auch bei Kakao bereitet sie wegen der starken Färbung der wässerigen Auszüge oft erhebliche Schwierigkeiten.

Die titrimetrische Methode nach *von Fellenberg* ist praktisch auf alle Lebensmittel und Präparate anwendbar, da sich alle Stärkearten gleich verhalten. Sie liefert zuverlässige und recht genaue Resultate. Die Methode ist jedoch etwas umständlich und zeitraubend und muss zuerst eingeübt werden. Gewisse Präparate erfordern eine mehrmalige Vorbehandlung.

Die kolorimetrische Methode ist ebenfalls empirisch. Fast jede Stärkeart verursacht eine verschieden starke Blaufärbung und gibt daher eine andere Eichkurve. Wenn jedoch die Stärkeart bekannt ist, liefert die kolorimetrische Methode gut brauchbare Werte. Sie ist viel einfacher als die titrimetrische Methode und besonders für Serienuntersuchungen geeignet.

Aus den Zahlen in Tabelle 29 erkennt man, dass bei Weissmehl, Halbweissmehl, Zwieback, Brot und Paniermehl nach allen 3 Methoden recht gut überein-

Tabelle 29

Vergleichende Stärkebestimmung in Lebensmitteln

Nr.	Material	Trockensubstanz %	Titrimetrisch			Kolorimetrisch				Polarimetrisch			
			Einwaage mg	Vorbehandlung	Stärke %	Einwaage mg	Vorbehandlung	Stärke %	Stärke berechnet als	Drehwert Hauptversuch	Drehwert Blindversuch	Faktor	Stärke %
1	Weissmehl	88,85	70,98	V	**80,9**	70,98	IV	**80,8**	Weizenstärke	13,25	0	5,635	**84,0**
			67,53	I	**81,0**	45,40	Ia	**82,9**		13,20	0,04		**83,5**
			53,33	I	**80,6**								
			63,91	III	**80,8**								
			53,36	III	**80,8**								
			72,23	II	**79,3**								
			72,12	I	**79,6**								
			73,07	I	**79,5**								
2	Halbweissmehl	88,93	69,09	V	**76,2**	69,09	IV	**76,4**	Weizenstärke	12,38	0,00	5,635	**78,5**
			76,39	I	**74,9**	50,30	Ia	**77,3**		12,40	0,00		**78,6**
			59,68	I	**75,9**	48,40	Ia	**77,0**		12,41	0,10		**78,0**
			71,65	III	**75,7**								
			50,59	III	**76,3**								
3	Maismehl	88,75	80,80	I	**79,7**	80,80	Ia	**78,0**		13,30	0,16	5,635	**83,3**
			84,50	I	**80,1**	84,50	Ia	**79,6**		13,30	0,16		**83,3**
4	Knäckebrot	91,01	73,55	VI	**64,0**	73,55	IV	**56,6**	Weizenstärke	10,64	0,12	5,64	**65,2**
			93,19	IV	**63,0**	39,77	IV	**57,0**					
			90,86	IV	**63,2**								
5	Zwieback (Winterthur)	98,04	92,3	VI	**53,4**	92,30	VI	**53,0**	Weizenstärke	10,65	1,30	5,635	**53,8**
						52,62		**54,8**		10,66	1,30		**53,8**
6	Zwieback (Basel)	97,49	85,74	VI	**52,5**	85,74	VI	**52,6**	Weizenstärke	9,81	0,40	5,635	**54,4**
			100,6	IV	**54,7**					9,73	0,34		**54,3**
			101,08	IV	**54,0**								

7	Pariserbrot, getrocknet	94,59	79,40	VI	**62,0**	79,4	VI	**62,0**	Weizenstärke				
8	Paniermehl	97,98	97,75 92,57 77,24	IV IV VI	**61,6** **62,1** **57,8**	77,24	VI	**58,2**	Weizenstärke	11,58 11,61	0,84 0,80	5,635	**61,8** **62,2**
9	Kindermehl I	—	224,6 148,6 145,9	VI IV IV	**52,3** **50,1** **50,3**	224,6 51,7	VI IV	**48,5** **52,3**	Weizenstärke	9,28 9,20	0,22 0,26	5,635	**51,0** **50,4**
10	Kindermehl II	—	195,48 198,5 191,4	 IV	**37,1** **39,5** **39,1**	195,48 52,32 101,37	VI	**40,5** **39,9** **42,0**	Weizenstärke	7,34 7,17	0,00 0,00	5,635	**41,4** **40,4**
11	Erbsensuppenwürfel	91,11	128,44 100,4 83,3	VI V V	**43,2** **46,6** **46,3**	128,44	VI	**41,1**	Erbsenstärke	7,64 7,59	0,22 0,27	5,65	**46,0** **45,4**
12	Kakaopulver	93,06	301,4 303,9 303,6	V II II	**15,4** **15,5** **15,5**	301,4	V	**13,6**	Weizenstärke	3,19	0,10	5,635	**18,7**

Vorbehandlung

I 1mal mit 10 ml 0,02-n essigsaurem Alkohol 60 %
1 oder 2mal mit 10 ml Alkohol 60 %

Ia 1mal mit 10 ml 0,02-n essigsaurem Alkohol 60 %
1mal mit 10 ml Alkohol 60 % + 1 ml 0,1-n J
1mal mit 10 ml Alkohol 60 %

II 1mal mit 10 ml Alkohol abs.
1 oder 2mal mit 10 ml Aether
2mal mit 10 ml 0,02-n essigsaurem Alkohol 60 %

III 1mal mit 10 ml Methanol abs.
1mal mit 10 ml Aether
1mal mit 10 ml 0,02-n essigsaurem Alkohol 60 % enthaltend 0,2 % DBS
1mal mit 10 ml 0,02-n essigsaurem Alkohol 60 % ohne DBS

IV Substanz mit 3,5 ml DBS-Lösung 0,2 % (gepuffert pH = 5,0) kochen; abkühlen, 0,5 ml 0,1-n J + 6 ml Alkohol abs. zugeben, mischen und zentrifugieren.
1 oder 2mal mit 10 ml Alkohol 60 %

V 1 oder 2mal mit 10 ml Aether entfettet, dann mit DBS-Lösung gekocht wie IV

VI 1mal mit 10 ml Methanol (60° C)
1mal mit 10 ml Aether, dann wie IV

VII 2mal mit 10 ml Alkohol abs. entwässert
2mal mit 10 ml Aether entfettet, weiter wie IV

Tabelle 29a

Vergleichende Stärkebestimmung in Lebensmitteln (Fortsetzung)

Nr.	Material	Kolorimetrisch			Titrimetrisch			
		Einwaage g	Vorbehandlung	Stärke %	Einwaage g	Vorbehandlung	Stärke %	Stärke berechnet als
13	Senf	1,987	VII	**1,90**	1,987	VII	**1,47**	Reisstärke
14	Schweinefleischkonserve, dänische	1,247 1,302		**6,63** **6,45**	1,247 1,302		**6,15** **6,27**	Kartoffelstärke
15	Hackbraten I	1,190 1,115	VII VII	**4,28** **4,17**	1,190 1,115	VII VII	**4,26** **4,18**	Weizenstärke
16	Hackbraten II	1,088 1,074	VII VII	**4,88** **4,46**	1,088 1,074	VII VII	**4,77** **4,45**	" "
17	Fleischpaste I	1,195 1,515	VII VII	**3,03** **3,16**	1,195 1,515	VII VII	**2,86** **2,64**	" "
18	Fleischpaste II	1,137	VII	**3,21**	1,137	VII	**3,11**	"
19	Fleischpaste III	1,064	VII	**5,06**	1,064	VII	**4,97**	"

stimmende Resultate erhalten werden. Auch bei den Kindermehlpräparaten, die mehr oder weniger dextrinierte Mehle enthielten, stimmen die titrimetrisch und die polarimetrisch ermittelten Stärkegehalte überein.

Die beiden Kindermehle wurden seinerzeit von der Firma Galactina und Biomalz AG, Belp, speziell zu Versuchszwecken für die Eidg. Lebensmittelbuchkommission hergestellt und von Mitgliedern der 5. Subkommission in 4 verschiedenen Laboratorien [30]) untersucht.

Kindernährmittel I enthielt Mehl, Rohrzucker, Malzextrakt, ungezuckerte Milch, aber kein Gemüse. Es war im Ofen bei ca. 220° dextriniert worden.

Kindernährmittel II enthielt verschiedene Cerealien, Rohrzucker, beträchtliche Mengen diverser Gemüse und Vollmilchpulver. Das Präparat war nicht dextriniert worden.

Bei Knäckebrot gibt die kolorimetrische Methode gegenüber den andern Verfahren eindeutig zu niedrige Werte. Dies ist vermutlich zum Teil darauf zurückzuführen, dass in Knäckebrot nicht nur Weizen, sondern noch andere Getreidearten verarbeitet worden sind. Unser Resultat ist auf Grund der Eichkurve für Weizenstärke berechnet worden.

Auch bei Erbsensuppe (Suppenwürfel) gibt die kolorimetrische Methode eindeutig zu niedrige Werte, während die titrimetrische und polarimetrische Methode gut übereinstimmende Resultate liefern. Dies hängt zweifellos mit der für die Erbsenstärke verwendeten Eichkurve zusammen. Wie *Nielsen* und *Gleason*[7]) gezeigt haben, schwanken die Blauwerte für Erbsenstärke sehr stark je nach Sorte.

Bei Fleischkonserven versagt die polarimetrische Methode vollständig. Die titrimetrische und die kolorimetrische Methode ergaben bei 6 verschiedenen Fleischkonserven des Handels recht gut übereinstimmende Werte, was aus den Resultaten der Tabelle 29a hervorgeht. Voraussetzung für die Auswertung der kolorimetrischen Messungen ist allerdings, dass die verwendete Stärkeart bekannt ist, weil die Berechnungsfaktoren der einzelnen Stärkearten ziemlich stark voneinander abweichen. Bei der dänischen Schweinefleischkonserve Nr. 14 war ein Zusatz von Kartoffelstärke deklariert. Bei den Mustern 15 bis 19 wurde zur Verdickung Weizenmehl benutzt. Die Uebereinstimmung der kolorimetrischen Werte mit den titrimetrisch gefundenen ist zum Teil verblüffend gut. Die titrimetrische Methode darf als die zuverlässigste gelten. Die verwendete Stärkeart hat hier keinen Einfluss auf die Berechnung des Resultates, weil immer der gleiche Faktor benützt wird.

V. Arbeitsvorschriften

Titrimetrische Stärkebestimmung

(Modifizierte von Fellenberg-Methode)

Prinzip

Die Stärke wird mittels heisser gepufferter Calciumchloridlösung aus dem Untersuchungsmaterial herausgelöst, die Lösung verdünnt und filtriert. In einem aliquoten Teil fällt man die Stärke mit Jodlösung als Jodstärke aus. Die daraus isolierte gereinigte Stärke wird mit Bichromat und konzentrierter Schwefelsäure oxydiert und der Stärkegehalt aus dem titrimetrisch ermittelten Bichromatverbrauch berechnet.

Reagenzien

Gepufferte Calciumchloridlösung

40%ig, hergestellt durch Lösen von 100 g krist. Calciumchlorid ($CaCl_2 \cdot 6H_2O$ pro analysi) in 1,01 ml 0,5-m Essigsäure, 24,4 ml 0,5-m Natriumacetatlösung und 1,3 ml dest. Wasser.

Zur Herstellung von 0,5-m Essigsäure verdünnt man 2,85 ml Eisessig mit dest. Wasser auf 100 ml. 0,5-m Natriumacetatlösung bereitet man durch Lösen von 6,800 g krist. Natriumacetat ($C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$) in dest. Wasser und Verdünnen auf 100 ml.

Gepufferte Dodecylbenzolsulfonatlösung (DBS-Lösung)

Einer 0,2-molaren Essigsäure-Acetatpufferlösung nach *Walpole* mit pH = 5,0 fügt man 0,2 % Dodecylbenzolsulfonat zu. Für die Pufferlösung mischt man 29,5 ml 0,2-molare Essigsäure (12 g Essigsäure pro Liter) und 70,5 ml 0,2-molare Natriumacetatlösung (27,3 g $C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$ pro Liter).

Als Dodecylbenzolsulfonat verwendeten wir das Handelspräparat Santomerse Nr. 1 der Schweiz. Sprengstoff-Fabrik AG, Dottikon.

Alkohol, 60%ig, 0,02-n essigsauer (0,12 g Essigsäure in 100 ml)

Alkohol, 60%ig, chemisch rein

Jodlösung, ca. 0,1-n

Kaliumbichromatlösung 0,2-n

Natriumthiosulfatlösung 0,1-n, eingestellt

Schwefelsäure, 95—97%ig, pro analysi

Arbeitsvorschrift

Vorbehandlung

Das Untersuchungsmaterial soll, besonders wenn es Backprodukte betrifft, möglichst staubfein, vorzugsweise mit einer Kugelmühle gemahlen sein und Sieb VI (Maschenweite 0,18 mm) vollständig passieren.

Eine Menge, die 10 bis 60 mg Stärke enthält, wird in ein dickwandiges Reagensglas (innerer Durchmesser 17 mm, Länge 155 mm) auf 0,1 mg genau eingewogen. Bei stärkearmen Produkten wie Senf soll die Einwaage in der Regel nicht mehr als 0,5 g betragen.

Trockene, fettreiche Materialien (z.B. Suppenpräparate) werden zunächst 1 bis 2mal mit 10 ml Aether geschüttelt, abzentrifugiert und die ätherische Lösung vorsichtig abgegossen. Wasserhaltige, fettreiche Produkte (Senf, Fleischpaste) werden vor der Aetherbehandlung 2mal mit absolutem Alkohol geschüttelt. Dann fährt man weiter wie unter b) oder c).

a) Vorbehandlung ohne Sieden

Bei *Mahlprodukten* und anderen *nicht gebackenen Waren* genügt eine dreimalige Vorbehandlung mit essigsaurem 60%igem Alkohol. Man fügt aus einem Messzylinder mit 10 ml 0,02-n essigsaurem 60%igem Alkohol 2 bis 3 ml hinzu und zerreibt das Material während einiger Minuten gut mit einem 5 bis 6 mm dicken Glasstab, fügt weitere Mengen Alkohol hinzu, schüttelt noch einige Male und spült schliesslich mit den letzten ml Alkohol die an der Wand des Reagensglases und dem Glasstab haftenden Partikelchen quantitativ in die Lösung. Ein nachträgliches kurzes Erwärmen im Wasserbad auf 70 bis 80° C kann gelegentlich bei langsam löslichen Verunreinigungen vorteilhaft sein. Anschliessend zentrifugiert man und giesst vorsichtig ohne Materialverlust ab. Diese Vorbehandlung wird noch ein oder zweimal wiederholt, dann fährt man weiter wie unter Abschnitt «Lösen der Stärke».

Wenn die Stärke auch kolorimetrisch bestimmt werden soll, muss das Untersuchungsmaterial bei der Vorbehandlung unbedingt mit Jod behandelt werden. Nach dem ersten Ausschütteln mit Alkohol giesst man die auszentrifugierte überstehende Lösung ab und versetzt den Rückstand mit 1 ml 0,1-n Jodlösung und 10 ml 60%igem Alkohol, schüttelt gut durch und zentrifugiert. Die dritte Ausschüttlung erfolgt wiederum mit 60%igem Alkohol.

b) Vorbehandlung mit siedender DBS-Lösung

Bei *Backwaren,* wie z.B. Brot, Paniermehl, Zwieback, und bei *eiweisshaltigen Produkten,* wie z.B. Fleischwaren, verwendet man statt essigsaurem 60%igem Alkohol eine gepufferte Dodecylbenzolsulfonatlösung (DBS-Lösung). Man fügt 3,5 ml DBS-Lösung hinzu und erhitzt zum Sieden, kocht 2 Minuten, während man mit einem 5 bis 6 mm dicken Glasstab intensiv die Masse verreibt, kühlt ab und gibt 0,5 ml 0,1-n Jodlösung und 6 ml absoluten Alkohol hinzu, wobei man mit den letzten ml Alkohol die an der Wand und am Glasstab haftenden Partikelchen quantitativ in die Lösung spült, schwenkt um und zentrifugiert. Hierauf giesst man vorsichtig, möglichst vollständig und ohne Materialverluste ab und wäscht den Rückstand noch zweimal mit 10 ml 60%igem Alkohol aus, zentrifugiert und giesst wieder vorsichtig ab.

Lösen der Stärke

Das nach der Vorbehandlung von Zucker und störenden Eiweisstoffen weitgehend befreite Material wird mit 5 ml gepufferter Calciumchloridlösung versetzt. Man rührt die Masse mit einem Stabthermometer gut durch und erhitzt das schräg gehaltene Reagensglas über freier kleiner Flamme unter ständigem Rühren zum Sieden. Der von der Vorbehandlung im Material verbliebene Alkohol entweicht, und die Lösung wird etwas eingekocht, bis die Siedetemperatur von 121° erreicht ist. Von diesem Moment an muss noch während 5 bis 15 Minuten mit ganz kleiner Flamme weitergekocht werden, wobei die Temperatur von 121° eingehalten wird. Bei Präparaten, die reines Stärkemehl enthalten, wie beispielsweise Crème-, Pudding- und Backpulver, genügen 5 Minuten Kochzeit. Bei Mahlprodukten sind 10 Minuten, bei Backwaren und Fleischwaren 10 bis 15 Minuten erforderlich.

Nach dem Kochen wird mit ca. 10 ml dest. Wasser verdünnt, die Lösung quantitativ in ein 50 ml Messkölbchen übergeführt, abgekühlt, mit 2,5 ml n Salzsäure versetzt und nach dem Auffüllen zur Marke mit dest. Wasser bei Normaltemperatur durch ein Rundfilter von 9 cm Durchmesser (Schleicher & Schuell, Schwarzbandfilter Nr. 589[1]) filtriert. Die Filtration soll rasch vor sich gehen und innert einigen Minuten 15 bis 20 ml Filtrat (Stammlösung) liefern. Wenn die Filtrationsgeschwindigkeit rasch abnimmt und eine Neigung zur Verstopfung des Filters vorliegt, so ist die Stärke nicht genügend gelöst oder es sind störende Verunreinigungen vorhanden. Es besteht dann die Gefahr, dass Stärke auf dem Filter zurückgehalten wird. Die Kochzeit mit der Calciumchloridlösung soll in

diesem Fall verlängert oder die Vorbehandlung intensiviert werden. Wird die Filtration verzögert durch Verunreinigungen, die keine Stärke zurückhalten, z.B. bei Senf oder kakaohaltigen Produkten, dann kann die Lösung zuerst zentrifugiert und dann filtriert werden, um eventuell noch schwebende Teilchen zu entfernen.

Fällen und Reinigen der Stärke

Vom Filtrat (Stammlösung) wird ein aliquoter Teil (10 bzw. 20 ml, enthaltend 6 bis 12 mg Stärke) in ein mit Kaliumbichromat-Schwefelsäure gereinigtes, dickwandiges Reagensglas (gleiche Abmessungen wie oben) abpipettiert.

Man überschichtet die Stärkelösung vorsichtig mittels einer Pipette mit 1 ml dest.Wasser, lässt dann der Wand entlang 1 ml 0,1-n Jodlösung zufliessen, schwenkt dann schnell 2 bis 3mal um, bis sich die ganze Lösung völlig blau gefärbt hat. Das Vermischen soll nicht durch Umkippen des Reagensglases vorgenommen werden, sondern lediglich durch Umschwenken. Man lässt ca. 15 bis 20 Minuten ruhig stehen und zentrifugiert dann während ca. 10 Minuten. Auf diese Weise wird weitgehend vermieden, dass sich Teilchen von Jodstärke an der Wandung festsetzen oder an der Flüssigkeitsoberfläche haften und nach dem Zentrifugieren mit der überstehenden Lösung abgegossen werden. Sollten nach dem Zentrifugieren noch kleine Partikelchen in der Flüssigkeit schweben oder lose an der Glaswand haften, so dreht man das Reagensglas in senkrechter Lage schnell zwischen beiden flachen Händen um seine Längsachse, wobei sich fast alle Teilchen lösen, und zentrifugiert nochmals. Die überstehende braune, vollständig klare Jodlösung wird vorsichtig und möglichst vollständig abgegossen.

Der Niederschlag muss nun dreimal nacheinander gründlich mit je 10 ml 60%igem Alkohol ausgewaschen werden, den man zweckmässig vorher in einem Messzylinder abmisst. Zuerst befeuchtet man die Jodstärke mit einigen Tropfen Alkohol und verreibt sie mit einem Glasstab zu einer feinen homogenen Masse. Erst nachdem keine Klümpchen mehr vorhanden sind, gibt man weitere 5 bis 6 ml Alkohol hinzu, mischt gut durch und bringt mit dem Glasstab auch die noch an der Wand haftenden Teilchen in den Alkohol und spült schliesslich den Glasstab mit dem Rest des Alkohols ab. Durch Reiben des Glasstabes gegen den inneren Rand des Reagensglases lassen sich die Partikelchen bequem quantitativ vom Glasstab loslösen, dann stellt man das Reagensglas unter gelegentlichem Umschwenken während ca. 3 bis 5 Minuten in ein Wasserbad von 70 bis 80° C. Man wirbelt den Niederschlag durch vorsichtiges rasches Schwenken des Reagensglases auf und zentrifugiert. Die Waschflüssigkeit wird abgegossen und der Niederschlag noch zweimal in gleicher Weise mit 60%igem Alkohol ausgewaschen und aufgewärmt. Die dritte Waschflüssigkeit soll auf Zusatz von einigen Tropfen Silbernitratlösung höchstens eine schwache Opaleszenz ergeben.

Der Stärkerückstand wird mit ca. 5 ml Wasser versetzt und über freier Flamme vorsichtig gekocht, bis er sich vollständig gelöst hat und die letzten

Spuren Jod ausgetrieben sind. Dazu soll, nachdem der Alkohol vollständig verdampft ist, noch mindestens 1 bis 2 Minuten unter deutlichem Entweichen von Wasserdampf weitergekocht werden. Um Siedeverzüge zu vermeiden, rührt man ständig mit einem Glasstab und fügt eventuell zwei Bimssteinchen hinzu.

Anmerkung

Falls man am Schluss des Abschnitts «Fällen und Reinigen der Stärke» eine trübe Lösung mit flockigen Ausscheidungen erhalten hat, muss sie filtriert werden. Man führt die Lösung quantitativ in ein 25 ml Messkölbchen über, füllt bei Normaltemperatur auf und filtriert durch ein Schwarzbandfilter. Von diesem Filtrat pipettiert man einen aliquoten Teil (20 ml = $^4/_5$) in das 100 ml Glasschälchen, dampft zur Trockne ein und oxydiert wie im nächsten Abschnitt beschrieben.

Oxydation der Stärke

Die Lösung muss farblos, opalisierend sein. Sollte sie ausnahmsweise stark getrübt sein, muss sie filtriert werden (siehe Anmerkung). Die Lösung wird in ein mit Chromschwefelsäure gereinigtes 100 ml-Glasschälchen übergeführt und das Reagensglas mit heissem Wasser ausgespült, wobei man mit einem Gummiwischer (Glasstab mit übergestülptem 1 cm langem Gummischlauch) die eventuell anhaftende Stärke von der Wand losreibt.

Man dampft die Stärkelösung auf dem Wasserbad zur Trockne ein. Das Schälchen soll sorgfältig vor Staub und anderen Verunreinigungen geschützt werden.

Zu dem getrockneten Stärkerückstand pipettiert man genau 10 ml 0,2-n Kaliumbichromatlösung und gibt langsam unter ständigem Rühren mit einem Glasstäbchen, das weiter im Schälchen verbleibt, 20 ml konz. Schwefelsäure zu. Wenn sich der Eindampfrückstand völlig gelöst hat, bedeckt man das Schälchen mit einem Uhrglas und stellt es während 15 Minuten auf ein siedendes Wasserbad. In gleicher Weise wird der Blindversuch mit 10 ml 0,2-n Kaliumbichromat und 20 ml konz. Schwefelsäure angesetzt.

Dann lässt man erkalten, giesst aus einem Messzylinder mit 500 ml kaltem Leitungswasser 200 ml in einen 750 ml-Erlenmeyerkolben und spült mit den übrigen 300 ml Wasser den Inhalt der Schale quantitativ in den Erlenmeyerkolben, schüttelt durch, kühlt auf ca. 15° C ab, gibt 0,5 bis 1,0 g reines Kaliumjodid zu, bedeckt den Kolben mit einem Uhrglas, mischt gut durch, bis sich das Kaliumjodid gelöst hat, lässt 30 Minuten im Dunkeln stehen und titriert das ausgeschiedene Jod mit eingestellter 0,1-n Natriumthiosulfatlösung und Stärkelösung als Indikator. Die Differenz des Thiosulfatverbrauchs zwischen Blindversuch und Hauptversuch entspricht der vorhandenen Stärke. Hauptversuch sowie Blindversuch sollen als Doppelbestimmung ausgeführt werden.

Berechnung

Die Differenz zwischen Thiosulfatverbrauch im Blindversuch und im Hauptversuch entspricht dem für die Oxydation der Stärke verbrauchten Kaliumbichromat. Auf Grund zahlreicher Modellversuche (Tab. 8) entspricht

$$1 \text{ ml } 0{,}1\text{-n } K_2Cr_2O_7 = 0{,}695 \text{ mg Stärke}$$

Bei quantitativer stöchiometrischer Oxydation der gesamten Stärke würde 1 ml 0,1-n $K_2Cr_2O_7$ 0, 675 mg Stärke entsprechen.

Wiederholbarkeit

Bei über 30 Versuchen mit 14 verschiedenen Handelsprodukten mit Stärkegehalten von 2 bis 83 % wurde eine relative Standardabweichung von 1,20 % gefunden.

Kolorimetrische Stärkebestimmung

Prinzip

Das Untersuchungsmaterial wird mit gepufferter, 40%iger Calciumchloridlösung gekocht, wobei die Stärke in Lösung geht. Die Lösung wird im Messkolben verdünnt und filtriert. Ein aliquoter Teil des Filtrates wird unter genau definierten Bedingungen mit Jodlösung vermischt und die Extinktion der blauen Jodstärkelösung bestimmt. Den Stärkegehalt entnimmt man aus einer Eichkurve.

Reagenzien

Gepufferte Calciumchloridlösung 40%ig, wie bei der titrimetrischen Methode.

Jodlösung 0,02-n, enthaltend 5 g KJ und 2,54 g Jod im Liter (hergestellt durch Verdünnen von üblicher 0,1-n Jodlösung). Der Titer soll nicht mehr als ± 1 % von der vorgeschriebenen Normalität abweichen.

Dodecylbenzolsulfonatlösung 1%ig (DBS) 1,0 g «Santomerse» Nr. 1 der Schweizerischen Sprengstoff-Fabrik AG, Dottikon, gelöst in 100 ml.

Arbeitsvorschrift

Die *Vorbehandlung* des Untersuchungsmaterials zur Entfernung störender Stoffe, wie Fett und Eiweiss, erfolgt gleich wie bei der titrimetrischen Methode, entweder kalt bzw. warm mit essigsaurem 60%igem Alkohol oder durch Kochen mit Dodecylbenzolsulfonat und Ausfällen der Stärke mit Jodlösung und Alkohol. Bei der kolorimetrischen Methode ist es jedoch unerlässlich, dass das Untersuchungsmaterial bei der Vorbehandlung mit Jod versetzt wird, um reduzierende Stoffe zu oxydieren. Bei Mehlen behandelt man einmal mit 10 ml 0,2-n essigsaurem 60%igem Alkohol. Bei der zweiten Behandlung setzt man 10 ml 60%igen Alkohol und 1 ml 0,1-n Jodlösung zu. Die dritte Vorbehandlung geschieht wiederum nur mit 10 ml 60%igem Alkohol.

Die Stärke wird ebenfalls in gleicher Weise gelöst wie bei der titrimetrischen Methode, indem man das vorbehandelte Untersuchungsmaterial mit 5 ml 40-%iger Calciumchloridlösung (gepuffert auf pH=6,0) während 5 bis 10 Minuten kocht. Man führt die Lösung in einen 50-ml Messkolben über, kühlt, setzt 2,5 ml n Salzsäure zu, füllt zur Marke auf und filtriert durch ein Schwarzbandfilter.

Für die *Farbreaktion* gibt man mittels einer Pipette einen aliquoten Teil obiger Stammlösung (meistens 5 oder 10 ml = 1/10 oder 1/5 der Einwaage) tropfenweise und unter ständigem Umschwenken in einen 100 ml Messkolben mit der Reagenslösung. Die Reagenslösung im Messkolben bereitet man wie folgt: Zu 70 bis 80 ml Wasser gibt man mittels Pipetten 1,0 ml 0,1-n Salzsäure, 1,5 ml 0,02-n Jodlösung und 1,0 ml DBS-Lösung und mischt. Nachdem die Stärkelösung zugesetzt ist, wird bis zur Marke aufgefüllt, gut gemischt und der Kolben im Dunkeln oder bei gedämpftem Tageslicht eine Stunde bei genau 20°, am besten in einem Wasserbad von 20,0° C, stehen gelassen.

Nach 60 Minuten wird die Lösung in eine 2 cm Küvette eingefüllt und die Extinktion beim Absorptionsmaximum gegen dest. Wasser gemessen. Die Messung muss genau bei 20° erfolgen, weil jedes Grad Temperaturunterschied einen Fehler von 1 % an der Extinktion bedingt. Bei niedrigeren Temperaturen wird die Farbe intensiver, bei Temperaturerhöhung blasser. Die Küvette soll möglichst wenig mit den Händen berührt werden, um Erwärmung zu vermeiden. Am zweckmässigsten wird sie unmittelbar vor der Messung in einer Kristallisierschale mit Wasser von 20° thermostatiert.

Die Absorptionsmaxima der verschiedenen Stärkearten liegen bei:

Weizenstärke	585 mμ	Stärke von weissen Bohnen und gelben Erbsen	590 mμ
Reisstärke	580 mμ	Kartoffelstärke	575 mμ
Maisstärke	580 mμ	Manihotstärke	570 mμ
Marantastärke	575 mμ		

Nach beendeter Messung gibt man einen Tropfen 5%ige Natriumthiosulfatlösung in die Küvette, mischt durch und misst die Extinktion der farblosen Flüssigkeit gegen dest. Wasser. Die meistens verschwindend kleine Extinktion rührt von Verunreinigungen (Opaleszenz) her und wird von der Extinktion der ersten Messung subtrahiert.

Die Stärkegehalte der Lösungen, ausgedrückt in mg Stärke in 100 ml Endlösung, werden aus Eichkurven abgelesen.

Die Eichkurven für die verschiedenen Stärkearten werden in analoger Weise aufgenommen. 50 bis 60 mg gereinigter Stärke, deren Wassergehalt in einer gesonderten Probe zu bestimmen ist, werden ohne Vorbehandlung im Reagensglas während 5 Minuten mit 5 ml 40%iger Calciumchloridlösung unter ständigem Rühren mit einem Glasstab gekocht. Dann wird gekühlt, die Lösung in ein 50 ml Messkölbchen übergeführt, mit 2,5 ml n Salzsäure versetzt, zur Marke aufgefüllt und durch ein trockenes Schwarzbandfilter filtriert, wobei die ersten 10 ml Filtrat zu verwerfen sind. Vom Filtrat werden steigende Mengen (1–8 ml)

tropfenweise in 100 ml Messkolben zu der wie oben hergestellten Reagenslösung zugegeben und wie beschrieben eine Stunde stehen gelassen und bei 20° photometriert.

Im rechtwinkligen Koordinatensystem trägt man auf der Ordinate die gegen Wasser gemessene Extinktion und auf der Abszisse die zugehörige Anzahl mg wasserfreie Stärke in 100 ml Endlösung auf. Die Eichkurven verlaufen über einen grösseren Bereich linear, gehen aber meistens nicht genau durch den Nullpunkt (siehe Fig. 3 und 4). Bei höheren Extinktionen (0,5 bis 1,5) kann ein Berechnungsfaktor benützt werden (siehe Tab. 20).

Polarimetrische Stärkebestimmung

Methode *Baumann-Grossfeld,* standardisiert von *H. Hadorn* und *Fr. Doevelaar*

Prinzip

Die Stärke wird im Wasserbad in heisser verdünnter Salzsäure gelöst und der Drehwert in der geklärten Lösung bestimmt. In einer mit Tannin und Bleiessig von löslicher Stärke befreiten Blindprobe wird die Drehung der übrigen optisch aktiven Stoffe ermittelt und vom Hauptversuch subtrahiert.

Reagenzien

Salzsäure 0,31-n. 40 ml 25%ige Salzsäure werden auf 1 Liter verdünnt. Die Lösung muss genau auf 0,31-n eingestellt werden.

Carrez-Lösung I. 15 g Kaliumferrocyanid $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ auf 100 ml lösen.

Carrez-Lösung II. 30 g Zinksulfat $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ auf 100 ml lösen.

Tanninlösung, 10%ig

Bleiessig, basische Bleiacetatlösung, DAB 6, D_{20} = 1,232—1,237

Natriumsulfatlösung, 10%ig.

Arbeitsvorschrift

a) Ausführung des Hauptversuches

In ein 50 ml Messkölbchen, das mit 15 ml 0,31-n Salzsäure beschickt ist, werden unter ständigem Umschwenken 2,500 g des Untersuchungsmaterials durch einen Pulvertrichter eingetragen. Nachdem das Material ohne Knollen oder Klumpen völlig suspendiert ist, werden Trichter und der Kolbenhals mit 10 ml 0,31-n Salzsäure nachgespült (total 25 ml 0,31-n Salzsäure). Das Messkölbchen wird unter ständigem Umschwenken in ein kräftig siedendes, geräumiges Wasserbad eingetaucht und während genau 3 Minuten ununterbrochen umgeschwenkt. Das Sieden des Wasser darf nicht unterbrochen werden. Das Wasserbad ist mit passenden Ringen zuzudecken, so dass nur der Kolbenhals etwas aus einem Loch

des Ringspiels herausragt. Dieser wird mittels einer Tiegelzange, an deren Spitzen ca. 2 cm lange Stücke Gummischlauch übergestülpt werden, gefasst und das Kölbchen umgeschwenkt. Nach 3 Minuten langem Umschwenken lässt man das Kölbchen im Wasserbad stehen und schwenkt nur noch gelegentlich um. Insgesamt wird das Kölbchen während genau 15 Minuten im Wasserbad erhitzt, dann sofort und möglichst rasch unter ständigem Umschwenken in fliessendem Wasser auf 20° C abgekühlt. Man fügt je 0,5 ml *Carrez*-Lösung I und II zu (nach jeder Zugabe wird umgeschwenkt), füllt zur Marke auf und filtriert durch ein trockenes 12,5 cm-Faltenfilter, wobei die ersten 10 ml Filtrat verworfen werden. Das klare Filtrat wird im 200 mm-Rohr bei 20° C polarimetriert.

b) Ausführung des Blindversuches bei Mehlen und Materialien ohne lösliche oder verkleisterte Stärke (Vereinfachte Arbeitsweise)

5,00 g feinst gemahlenes Material werden in ein 50 ml Messkölbchen, das ca. 30 ml Wasser enthält, unter ständigem Umschwenken mit Hilfe eines Pulvertrichters eingetragen. Trichter und Kolbenhals spült man mit 10 ml Wasser nach. Dann wird die Masse am zweckmässigsten mit einem Magnetrührer während 15 Minuten gerührt. Nach dem Entfernen des Rührers mit Hilfe eines kräftigen Magneten klärt man mit je 1 ml *Carrez*-Lösung I und II (nach jeder Zugabe umschwenken), füllt mit Wasser bis zur Marke auf und filtriert durch ein trokkenes 12,5 cm-Faltenfilter.

25 ml dieses stärkefreien Filtrates (= 2,5 g Ausgangsmaterial) werden in einem 50 ml Messkolben mit 1,00 ml 25%iger Salzsäure während genau 15 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt, wobei die ersten 3 Minuten ununterbrochen umgeschwenkt wird, dann sofort und möglichst rasch abgekühlt, zur Marke aufgefüllt und die vollständig klare Lösung im 200 mm-Rohr bei ca. 20° C polarimetriert.

c) Ausführung des Blindversuches bei Gebäck oder Produkten mit verkleisterter oder löslicher Stärke

5,00 g feinst gemahlenes Material (siehe Bemerkung) werden in ein 50 ml-Messkölbchen, das mit ca. 20 ml Wasser beschickt ist, unter Umschwenken eingetragen. Trichter und Kolbenhals werden zusätzlich mit ca. 15 ml Wasser nachgespült; dann wird mittels eines Magnetrührers während 15 Minuten, bei Gegenwart von Dextrin, bis zu einer Stunde gerührt.

Bemerkung: Bei stark aufquellendem Material, wo das Rühren unmöglich wird, können 2,50 statt 5,00 g eingewogen werden. Der Drehwert der Blindprobe wird dann mit 2 multipliziert.

Nach diesem Auslaugen wird der Magnetrührer mit einem Magneten entfernt, die Flüssigkeit mit 2,5 ml Tanninlösung und unter weiterem Umschwenken mit 2,5 ml Bleiessig versetzt. Schliesslich wird mit Natriumsulfatlösung bis zur Marke aufgefüllt und durch ein trockenes 12,5 cm-Faltenfilter filtriert.

Falls die Flüssigkeit sehr schlecht filtriert, wird der Niederschlag abzentrifugiert und die überstehende Lösung, wenn sie noch Schwebeteilchen enthält, filtriert.

Das Filtrat soll stärkefrei sein (Jodreaktion rotbraun, nicht tiefblau). Wenn viel lösliche oder verkleisterte Stärke im Ausgangsmaterial vorhanden ist, wird durch obige Klärung nicht die gesamte Stärke entfernt. In diesem Fall soll die Klärung mit 5 ml Tanninlösung und 4 ml Bleiessig wiederholt werden.

25 ml des stärkefreien Filtrates (= 2,50 g Material) werden in einem 50 ml-Messkölbchen mit 1,0 ml 25%iger Salzsäure im siedenden Wasserbad während genau 15 Minuten erhitzt, wobei man die ersten 3 Minuten ununterbrochen umschwenkt. Man kühlt sofort und möglichst rasch ab, klärt mit je 0,5 ml *Carrez*-Lösung I und II (nach jeder Zugabe umschwenken), füllt mit Wasser bis zur Marke auf, filtriert durch ein trockenes 12,5 cm-Faltenfilter und polarimetriert das klare Filtrat im 200 mm-Rohr bei 20° C.

Berechnung

$$\textit{Stärkegehalt} \text{ in } \% = (a - b) \cdot F$$

a = Drehung des Hauptversuches, in Graden
b = Drehung des Blindversuches, in Graden
F = Faktor der Stärkeart

Faktoren der verschiedenen Stärkearten

Weizenstärke	=	5,635	Getreidestärken, Mittelwert = 5,64
Maisstärke	=	5,635	
Reisstärke	=	5,661	
Kartoffelstärke	=	5,501	
Manihotstärke	=	5,551	
Marantastärke	=	5,528	
Stärke von gelben Erbsen	=	5,652	
Stärke von weissen Bohnen	=	5,662	

Zusammenfassung

1. Verschiedene Methoden zur Stärkebestimmung in Lebensmitteln wurden systematisch überprüft und an zahlreichen Produkten ausprobiert.
2. Die titrimetrische Methode nach *von Fellenberg* musste in einigen Punkten modifiziert werden. Beim Kochen in konz. Calciumchloridlösung soll die Stärke möglichst vollständig aus dem Untersuchungsmaterial herausgelöst werden, jedoch muss ein Stärkeabbau verhindert werden. Diese Bedingungen sind in gepufferter (pH = 6,0) 35 bis 40%iger Calciumchloridlösung erfüllt. Mit Jodlösung wird die Jodstärke gefällt, mehrfach mit 60%igem Alkohol ausgewaschen und schliesslich die vom Jod befreite Stärke mit Bichromat-Schwefelsäure oxydiert. Bei dieser Methode verhalten sich alle Stärkearten gleich, so dass für die Berechnung ein einheitlicher Faktor (nahezu der stöchiometrische Wert) benützt werden kann.

Verschiedene Lebensmittel müssen vor dem eigentlichen Aufschluss vorbehandelt werden, um Fett und störende Eiweisstoffe zu entfernen.

3. Es wurde eine kolorimetrische Methode ausgearbeitet, die auf der Messung der blauen Färbung der Jodstärke beruht. Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials und Zubereitung der Stammlösung erfolgen gleich wie bei der titrimetrischen Methode. Die Intensität der Jodstärkelösung ist von zahlreichen Faktoren, wie Jodkonzentration, Reihenfolge der Reagenzienzusätze, der Temperatur und Reaktionszeit abhängig. Unter genau definierten Versuchsbedingungen erhält man gut reproduzierbare Werte. Die Lösungen gehorchen dem *Lambert-Beer*schen Gesetz. Für jede Stärkeart muss eine Eichkurve aufgenommen werden.
4. Die polarimetrische Methode von *Baumann* und *Grossfeld* wurde etwas genauer standardisiert und die Klärung mit Phosphorwolframsäure durch die bessere *Carrez*-Klärung ersetzt. Bei stärkereichen Produkten liefert die Methode gut reproduzierbare Resultate. Sie versagt bei kleinen Stärkegehalten und bei gewissen Präparaten, die Quellstärke oder sehr viel verkleisterte Stärke enthalten. Die spez. Drehungen für verschiedene Stärkearten wurden bestimmt.
5. Die 3 Methoden wurden auf zahlreichen Lebensmitteln angewendet, die Resultate miteinander verglichen und diskutiert.
6. Es werden genaue Arbeitsvorschriften zur titrimetrischen, kolorimetrischen und polarimetrischen Stärkebestimmung mitgeteilt.

Résumé

Examen systématique de diverses méthodes de dosage de l'amidon dans les denrées alimentaires et mise au point de modes opératoires précis pour les dosages volumétrique, colorimétrique et polarimétrique de cette substance. Les méthodes examinées sont:

a) la méthode volumétrique de *von Fellenberg*,
b) une méthode colorimétrique développée par les auteurs, et
c) la méthode polarimétrique de *Baumann* et *Grossfeld*.

Summary

Critical examination of various methods of determination of starch in foodstuffs and description of suitable procedures for the titrimetric, colorimetric and polarimetric determination of this substance. The methods examined are:

a) the titrimetric method of *von Fellenberg*,
b) a colorimetric method developed by the authors, and
c) the polarimetric method of *Baumann* and *Grossfeld*.

Herr Dr. Wyttenbach, Chemiker der Bell AG, Basel, hat uns in freundlicher Weise einige Proben Fleischpain zur Verfügung gestellt, denen bei der Fabrikation unter seiner Aufsicht genau bekannte Mengen Mehl beigemischt wurden. Wir möchten ihm an dieser Stelle für seine Bemühungen bestens danken. Von den Firmen Blattmann, Wädenswil, und Dr. Wander AG, Bern, wurden uns verschiedene Stärkesorten überlassen, wofür wir ebenfalls danken.

Literatur

1) *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **28**, 111 (1937); Schweiz. L.B. IV, S. 114 (1937).
2) *H. Hadorn* und *K. W. Biefer*, diese Mitt. **44**, 276 (1953).
3) *C. Baumann* und *J. Grossfeld*, Z.U.L. **33**, 97 (1917); Schweiz. L.B. IV, S. 116 (1937).
4) *C. Mannich* und *Käthe Lenz*, Z.U.L. **40**, 1 (1920).
5) *S. Schwimmer, A. Bevenue, W. J. Weston* und *A. L. Potter*, J. Agr. Food Chemistry **2**, 1284 (1954).
6) *H. Wuhrmann* und *O. Högl*, diese Mitt. **34**, 156 (1943).
7) *J. P. Nielsen* und *P. C. Gleason*, J. Indust. Engng. Chem., Anal. Ed. **15**, 176 (1943).
8) *Walpole*, J. Chem. Soc. **105**, 2501 (1914).
9) *Kurt Heyns*, Die neueren Ergebnisse der Stärkeforschung. Verlag F. Nieweg & Sohn, Braunschweig (1949), S. 17.
10) Handbuch der Lebensmittelchemie Bd. V, S. 19, 75, 234 (1939).
11) *N. Schoorl*, Organische Analyse Bd. III, Uitgeverij Centen, Amsterdam (1941), S. 233.
12) *J. F. Forster, Jen Tsi Yang* und *N. Henri Yui*, Cereal Chemistry **27**, 477 (1950), Ref. Z.U.L. **94**, 50 (1952).
13) *K. H. Meyer*, Angew. Chem. **63**, 153 (1954), Naturwissenschaften **28**, 397 (1940), Uebersichtsarbeit in Experientia **8**, 405 (1952).
14) *J. Holló* und *J. Szejtli*, Stärke **9**, 109 (1957).
15) *J. Holló* und *J. Szejtli*, Elelmezési Ipar **10**, 98 (1956), Referat in Stärke **8**, 123 (1956).
16) *M. Ulmann* und *S. Augustat*, Ztschr. analyt. Chem. **162**, 337 (1958); vgl. *S. Augustat*, Ernährungsforschung **3**, 567 (1958).
17) *E. Berliner* und *W. Krantz*, Mühlenlab. **7**, 89 (1937), zitiert nach *Rohrlich* [18]).
18) *M. Rohrlich* und *G. Brückner*, «Das Getreide», Hayn's Erben, Berlin (1957).
19) *R. M. McCready, J. Guggolz, V. Silviera* und *H. S. Owens*, Analyt. Chemistry **22**, 1156 (1950).
20) *G. W. Pucher* und *H. B. Vickery*, J. Industr. Engng. Chem., Anal. Ed. **8**, 92 (1936).
21) *L. H. Lampitt* und *H. C. Fuller*, Stärke **7**, 223 (1955).
22) *R. R. Baldwin, R. S. Bear* und *R. E. Rundle*, J. Amer. chem. Soc. **66**, 111 (1944).
23) *J. Bonner*, «Plant Biochemistry», Academic Press, New York (1950), S. 50.
24) *K. H. Meyer* und *P. Bernfeld*, Helv. chim. Acta **24**, 391 (1941).
25) *R. M. McCready* und *W. Z. Hassid*, J. Amer. chem. Soc. **65**, 1154 (1943).
26) *J. P. Nielsen* und *P. C. Gleason*, J. Industr. Engng. Chem., Anal. Ed. **17**, 131 (1946).
27) *E. Ewers*, Z. öffentl. Chem. **14**, 8 und 150 (1908).
28) *S. Zelenka* und *B. H. Kopriva*, Stärke **9**, 247 (1957).
29) *H. Hadorn*, diese Mitt. **36**, 386 (1945).
30) Gemeinschaftsarbeit, diese Mitt. **45**, 402 (1954).
31) *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **37**, 147 (1946).
32) *K. Täufel, K. Romminger* und *W. Hirschfeld*, Z.U.L. **109**, 1 (1959).
33) *Th. von Fellenberg*, diese Mitt. **35**, 185 (1944); **37**, 166 (1946).
34) *J. R. Fraser* und *D. C. Holmes*, J. of Science of Food and Agric. **9**, 589 (1956).
35) *J. R. Fraser, M. Brandon-Bravo* und *D. C. Holmes*, ebenda S. 581.