

UNTERSUCHUNG DER JOD-AMYLOSE-EINSCHLUSSVERBINDUNG

Von

J. SZEJTLI

Lehrstuhl für Landwirtschaftlich-Chemische Technologie,
Technische Universität, Budapest

(Eingegangen am 14. Dezember, 1962)

I. Einleitung

Die Zahl der Publikationen, die sich mit der Stärke-Chemie befassen, steigt in die Tausende, wobei die Publikationen und Patente betreffend die industrielle Verwendung gar nicht mitgerechnet sind.

Die Bedeutung der Stärke-Forschung liegt in der Tatsache, daß die Stärke den Hauptbestandteil der menschlichen Nahrung bildet, ist sie doch in allen Zerealien, wie Reis, Sago, Mais, Weizen, Kartoffeln usw. mehr oder minder reichlich enthalten. Die Quelle der Muskelenergie gelangt zu einem bedeutenden Teil in Form von Stärke oder Stärke-Spaltungsprodukten in den menschlichen Organismus.

Gewaltige Mengen von Stärke werden in ihrem ursprünglichen bzw. gereinigtem Zustand ganz allgemein zur alkoholischen Gärung von Bierbrauereien, Spiritusfabriken, aber auch von der Textilindustrie verarbeitet. Neuerdings gewinnen auch die Aether und Ester der Amylosekomponente der Stärke an Bedeutung. Die Stärke ist — nach der Zellulose — die meistverbreitete Polysaccharidart, die unter den verdaulichen Kohlenhydraten die erste Stelle einnimmt. Die älteste bekannte und wahrscheinlich wichtigste Reaktion der Stärke ist ihre Blaufärbung durch Jod, und dies dürfte zum Teil der Grund für das der Jodreaktion entgegengebrachte Interesse sein. Den anderen Grund für dieses Interesse bildet die Tatsache, daß der besondere Mechanismus der Reaktion und die Art der Bindung bis jetzt keine endgültige und allgemein akzeptierte Erklärung gefunden hat.

Über die Jodbindung der Stärke ist die Ansicht verbreitet, daß an ihr lediglich die überhaupt nicht oder nur in geringem Ausmaß verzweigte, aus Glukoseeinheiten mit α -1,4-Bindungen aufgebaute Amylose teilnimmt, während das auf etwa jeder 25. bis 27. Glukoseeinheit eine Verzweigung enthaltende Amylopektin an der Bindung von Jod unbeteiligt bleibt. In jüngster Zeit haben verschiedene Forscher [1, 2] reines Amylopektin dargestellt, dessen Jodbindevermögen jedoch meistens nicht gleich Null gefunden. Es bleibt eine offene Frage, ob dies die infolge der unvollkommenen Trennung im Amylopektin zurückgebliebenen Amylospuren verursachen oder ob es die längeren Seitenketten des Amylopektins sind, die das Jod ebenso binden wie die kür-

zeren Amyloseketten [3]. Unserer Ansicht nach ist es daher zweckmäßiger, von einer Stärke-Jodreaktion zu sprechen, ausgenommen, wenn man mit reinen Amylosepräparaten arbeitet, und dies um so mehr, als Amylopektin — sofern die Gleichgewichtskonzentration des freien Jods hoch genug ist —, ebensoviel Jod zu binden vermag wie die Amylose, und zwar teilweise vermittels ihrer Seitenketten, dem Spiralmechanismus entsprechend, und teilweise durch einfache Adsorption.

In der Literatur wird im allgemeinen von Jodadsorption gesprochen. Der Ausdruck Jodsorption [4] wäre wohl treffender, zumal sich die Jodaufnahme in zwei Etappen abspielt, in deren erster Einschlußverbindungen ent-

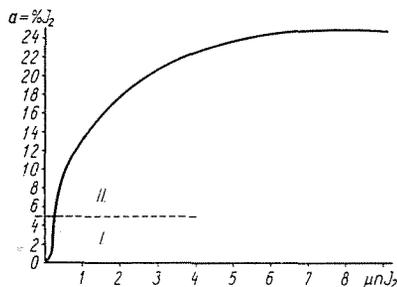


Abb. 1. Das Jodbindevermögen von Stärke als Funktion der freien Jodkonzentration

stehen. Das selbständige Vorhandensein dieser zwei Etappen wird durch die Jodsorptionsisotherme der Stärke (Abb. 1) am augenfälligsten bewiesen.

Den zweiten Abschnitt der in Abbildung 1 aufgetragenen Kennlinie beschreibt die Freundlichsche Gleichung der Adsorptionsisotherme. Dieser Abschnitt trägt in der Tat den Charakter der Adsorption, der erste hingegen nicht. Dieser entspricht jenem Zustand, in welchem sich das Jod in die Hohlräume der Amylospiralen einlagert, in welchem also der Prozeß den Begriff der Absorption deckt. Der erste Abschnitt stammt vornehmlich von der Amylose, am zweiten Abschnitt nehmen beide Komponenten teil. Die beiden Abschnitte können voneinander weder räumlich noch zeitlich getrennt werden, da Jod selbst im Falle reiner Amylose zu dem Zeitpunkt, zu dem die Amylose von der Jodsättigung noch weit entfernt ist, auch auf der Oberfläche der Spiralen gebunden wird. Daher sollte weder von einer Adsorption, noch von einer Absorption, sondern schlechthin von einer Sorption gesprochen werden. Zweckmäßig sollten indessen die beiden Abschnitte der Jodbindung als die absorptive bzw. die adsorptive Etappe bezeichnet werden.

2. Methoden zur mengenmäßigen Bestimmung des bindbaren Jods

Die erste Voraussetzung zur Untersuchung der Stärke-Jodreaktion war die Ausarbeitung einer zur Bestimmung des gebundenen Jods geeigneten Methode. Auf diesem Gebiet ist das von BATES, RUNDLE

und FRENCH [5] ausgearbeitete und später durch WILSON, SCHOCH und HUDSON [6] modifizierte potentiometrische Titrationsverfahren von bahnbrechender Bedeutung.

2.1. Potentiometrische Methode

Die Methode beruht auf der Erkenntnis, daß die Aktivität des Jods, bei Zusatz einer Jodlösung zu einer auch Stärke enthaltenden Lösung von konstanter Jodion-Konzentration, nicht im gleichen Maße zunimmt, als wenn Jod einer reinen Kalium-Jodidlösung zugesetzt worden wäre. Ein beachtlicher

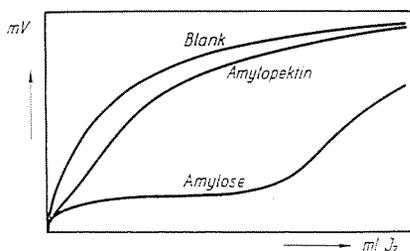


Abb. 2. Potentiometrische Titrationskurven

Teil des Jods wird gebunden und das Instrument mißt nur die Aktivität des freien Jods. Die Abb. 2 zeigt die Titrationskurven. Auch hier kann die Jodaufnahme in den bereits erwähnten zwei Etappen gut beobachtet werden. Im ersten Abschnitt erfolgt die Jodaufnahme isopotentiell, und das Potential ist für die Amylose bzw. für deren Polymerisationsgrad charakteristisch, während die Bindung von Jod im zweiten Abschnitt bei wachsendem Potential vor sich geht. Diese ist der Abschnitt der Adsorption. Der erste Abschnitt, in dem sich die blaue Farbe ausgestaltet und auf weiteres Zusetzen von Jod intensiviert, zeigt viele charakteristische Eigenheiten einer heterogenen Reaktion. Die Jodaktivität ist sowohl von der anwesenden Amylose-Menge als auch von der Additionsprodukt-Menge unabhängig. Das Potential des ersten Abschnittes ist die Funktion der Kettenlänge [8], weshalb bei der Titration zunächst die Fraktion des höchsten Polymerisationsgrades und erst im weiteren Verlauf der Reihe nach die der niedrigeren Polymerisationsgrade titriert werden [7]. Amylopektin ist zur Jodbindung nur bei wachsendem Potential, d. h. auf adsorptivem Wege fähig.

GILBERT und MARRIOTT [9] haben zur Prüfung des Mechanismus der Jodbindung eine differential-potentiometrische Methode ausgearbeitet, die darauf beruht, daß einer amylosehaltigen und einer ähnlichen, Amylose jedoch nicht enthaltenden Lösung Jod so lange zugesetzt wird, bis es keinen Potentialunterschied zwischen den in die beiden Lösungen eintauchenden Elektrodenpaaren gibt.

2.2. Amperometrische Methoden

Bei der amperometrischen Titration hängt der Instrumentenstand von der Jodaktivität nahezu linear ab, so daß die Empfindlichkeit im ganzen Meßbereich konstant bleibt und die die Meßpunkte verbindende Gerade leichter aufgetragen werden kann als die logarithmische Kurve der potentiometrischen Titration [10]. Demgemäß ist die amperometrische Titration punktlischer und auch leichter auszuführen. Das Arbeitsprinzip der Methode ist identisch mit demjenigen der dead-stop-Methode. Diese Methode wurde zunächst von LARSSON [2] und Mitarbeitern angewendet und dann von COTON

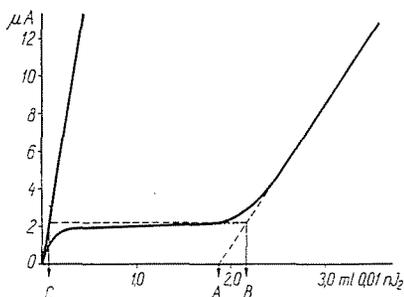


Abb. 3. Amperometrische Titrationskurve. Verbrauch = B—C

und Mitarbeitern [11] modifiziert. Wenn an Platin-Elektroden eine 40 mV Spannung gelegt wird, werden sie in saurem Medium polarisiert. Die der Konzentration des zugesetzten Jods proportionale Depolarisation läßt durch das System Strom fließen. Die der vorhandenen freien Jodkonzentration proportionale Stromstärke wird während der Titration gemessen und als Funktion der zugesetzten ml Meßlösung aufgetragen. Ein solches sogenanntes Amperogramm zeigt die Abb. 3.

Bei der dead-stop-Methode wird der Endpunkt durch den Ausschlag des Galvanometers angezeigt. Vor dem Endpunkt gibt es also keinen Strom und daher auch kein freies Jod. Bei der amperometrischen Titration von Stärke mit Jod fließt auch vor dem Erreichen des Endpunktes Strom durch das System; aus diesem und aus der bekannten Blindprobenkurve kann die freie Jodkonzentration berechnet werden.

Die zweite augenfällige Eigenheit der Titrationskurve besteht darin, daß der steile Abschnitt bei der Blindprobenkurve den größten, bei der Amylose einen etwas kleineren und bei Stärke den kleinsten Neigungswinkel hat. Der Grund hierfür liegt offenbar in der sich abspielenden Adsorption.

Das Amperogramm werten COTON und Mitarbeiter [11] aus, indem sie auf die Abszisse extrapolieren, als wäre der Endpunkt mit dem »A«-Punkt identisch. Unserer Ansicht nach [12, 13, 14, 15, 16] ist dies nur dann richtig,

wenn der Neigungswinkel des Amperogramms des titrierten Stoffes mit demjenigen der Blindprobe übereinstimmt. Dies trifft — und auch da nur annähernd — ausschließlich für die reine Amylose zu. Bei Stärke, bei welcher eine beträchtliche Menge Jod adsorptiv gebunden ist, kann dem Wesen nach als Abszisse der erste annähernd waagrechte Abschnitt des Amperogramms angesehen werden. Der Endpunkt ist mithin unserer Ansicht nach mit dem Punkt »B« identisch, von dessen Wert aber noch der Wert »C« abgesetzt werden muß, denn eine solche freie Jodmenge ist bereits im Endpunkt, ja selbst vor dem Erreichen desselben, in freiem Zustand, also in Überfluß vorhanden. Der ziffernmäßige Wert des Verbrauchs ist also mit B—C identisch. In diesem Falle wird das Resultat auch durch Schwanken im Wert des Neigungswinkels der Kurve nicht beeinträchtigt.

BRUNNER und LENTNER [13] setzen bei der amperometrischen Titration dem Stärke enthaltenden perchlorsaurigen Extrakt eine KJ Lösung zu und titrieren danach mit einer KJO₃ Lösung. Die Titriereinrichtung besteht aus einer rotierenden Platin-Elektrode (500 U/min) und aus einer gesättigten Kalomel-Elektrode, die durch eine KCl-Agarbrücke mit der zu titrierenden Lösung verbunden ist. Die beiden Elektroden werden ohne äußere Stromquelle mit einem Galvanometer kurzgeschlossen.

Nach diesem Verfahren erhält man Kurven desselben Typs wie bei dem soeben erörterten amperometrischen Verfahren.

2.3. Photometrische Methoden

Eine recht verbreitete Art des photometrischen Messens der Jodreaktion ist die Bestimmung des sogenannten Blauwertes (»blue value«). Das Wesen dieser Methode besteht darin, daß die Menge von Kohlenhydraten, Kaliumjodid und Jod in der zu prüfenden Lösung auf im vorhinein genau bestimmte Werte eingestellt und die Extinktion der Lösung unter normalisierten Bedingungen gemessen wird [18, 19, 20].

Die Kalibrationskurve bei AUGUSTAT [19] zeigt eine schwache Wölbung; mit ihrer Hilfe kann aus BW der Amylosegehalt rechnerisch ermittelt werden.

Bei der ähnlichen Methode von KERR und SEVERSON [20] fand man die Kalibrationskurve geradlinig. Sie ermittelten die Lichtabsorption bei 610 m μ , MCCREADY und HASSID hingegen [18] bei 660 m μ .

2.4. Sonstige Methoden

Quantitativ kann das gebundene Jod auch nach anderen Methoden, beispielsweise viskosimetrisch, bestimmt werden. Setzen wir eine Amyloselösung zu, wird sich die Viskosität des Systems nicht ändern, solange die Amy-

lose nicht völlig mit Jod gesättigt ist. Nach diesem Punkt aber steigt die Viskosität rapid an [16, 21, 22]. Der aus dem Schnittpunkt der beiden Kurvenabschnitte errechnete Jodsorptionswert stimmt mit den nach anderen Methoden gemessenen Werten gut überein.

3. Vergleich der Jodsorptionsmessungsmethoden

Da die verschiedenen Autoren auch mit unterschiedlichen Methoden verschiedene, von anderen nicht reproduzierbare Resultate erzielten, mußten diese Methoden einer vergleichenden Untersuchung unterworfen werden [45].

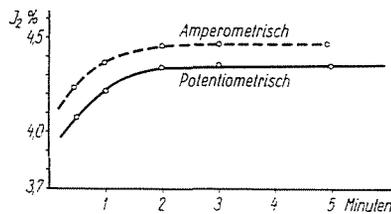


Abb. 4. Die Jodsorption als Funktion der zwischen dem Zusetzen der einzelnen Meßflüssigkeitsanteile verstreichenden Zeit

3.1. Prüfung der die Einstellung des Gleichgewichts der Stärke-Jodreaktion beeinflussenden Faktoren

Bei gleichen Temperaturen hängt die Einstellung des Gleichgewichtes von der Reaktionszeit, von der Menge und Konzentration der jeweils zugesetzten Meßlösung ab.

Nach PASCHALL und FOSTER [46] sind zum vollen Einstellen des Gleichgewichts mehrere Stunden erforderlich. Diese Zeit ist für gewöhnliche Titrations zu lang, so daß jene Zeit festgelegt werden mußte, in welcher eine nur unwesentlich unter der tatsächlichen liegende Jodsorption gemessen wird, ohne daß dies die Reproduzierbarkeit der Messungen beeinträchtigen würde.

Die Messungen nahmen wir folgendermaßen vor: 80 mg Stärke wurden mit 0,01 n-Jod₂ amperometrisch und potentiometrisch in der Weise titriert, daß vor dem Zusetzen der einzelnen Portionen 0,5, 1,0, 3,0 und 5,0 Minuten zugewartet wurde. Die Resultate sind in Abb. 4 zusammengestellt.

Aus der Abbildung ist ersichtlich, daß sich die nach den beiden Methoden gemessene Jodsorption nach 3 Minuten kaum noch ändert. Bei sehr genauen Messungen ist also eine Wartezeit von je 3 Minuten zwischen dem Zusetzen der einzelnen Meßlösungsanteile erforderlich. Bei weniger genauen Messungen, vor allem unter Betriebsverhältnissen, bei denen es auch auf die Raschheit

der Titration ankommt, genügt es, zwischen den einzelnen Zusätzen nur je 1 Minute zu warten. Der Fehler (bezogen auf die nach der vollen Einstellung des Gleichgewichtes gemessene Jodsorption) beträgt hierbei bloß 3%. Auf den Unterschied von etwa 0,15% zwischen den Ergebnissen der amperometrischen und der potentiometrischen Titration kommen wir beim Vergleich dieser beiden Methoden noch ausführlicher zu sprechen.

Die Einstellung des Gleichgewichtes wird auch durch die Menge der jeweils zugesetzten Meßlösung beeinflusst. Dies wurde folgendermaßen geprüft: Die in einem Endvolumen von 100 ml (90 ml Wasser + 10 ml 1 n-HCl) gelösten

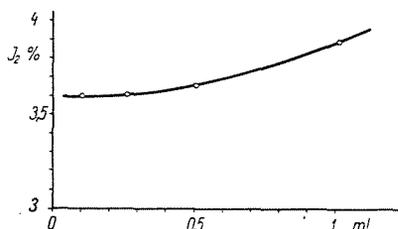


Abb. 5. Die Jodsorption als Funktion der jeweils zugesetzten Meßflüssigkeitsmenge

80 mg Kartoffelstärke wurden amperometrisch mit einer 0,01 n-J₂-Lösung titriert. Die Meßlösung wurde in Teilen von 0,1, 0,25, 0,5 und 1,0 ml unter Einhaltung einer Wartezeit von je 1 Minute zugesetzt. Aus Abb. 5 geht hervor, daß die Jodsorption bei gleicher Wartezeit auch von der Dosierung der Meßlösung abhängt und daß das Resultat um so höher liegt, je größer die jeweils zugesetzten Dosen sind.

Ähnliche Resultate sind zu erwarten, wenn die Konzentration der Titrationslösung geändert wird. Gleiche Stärkelösungen wie oben wurden mit 0,005, 0,01, 0,025 und 0,05 n-J₂-Lösung amperometrisch unter gleichen Bedingungen titriert. Die Resultate sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1

Die Jodsorption als Funktion der Normalität der Jodlösung

Normalität der Jodlösung	Gebundenes Jod ml	Jodsorption %
0,005	16,95	4,18
0,01	8,51	4,20
0,025	3,46	4,26
0,05	1,81	4,46

3.2. Einfluß der Oberflächenadsorption des Jodkomplexes und des Amylopektins

Im Verlaufe früherer Versuche hatten wir festgestellt, daß der Jodverbrauch zweier verschieden großer Volumina des gleichen Musters eines sauren Hydrolysats nicht linear mit den Volumina wächst. Zur Aufklärung dieser Erscheinung führten wir folgende Experimente durch:

Wir titrierten 150 bzw. 60 ml 0,04-, 0,06-, 0,12- und 0,16%-iger Stärkelösungen sowohl amperometrisch als auch potentiometrisch. Diese Meßresultate sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

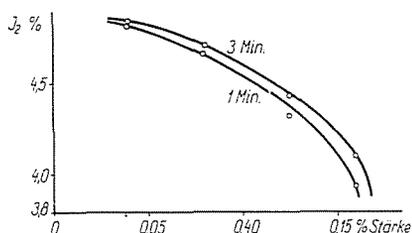


Abb. 6. Die Jodsorption als Funktion der Stärkekonzentration

Tabelle 2

Die Jodsorption als Funktion der Stärkekonzentration

Stärkekonzentration %	Jodsorption %	
	bei amperometrischer Titration	bei potentiometrischer Titration
0.04	4.81	4.44
0.08	4.70	4.36
0.12	4.41	4.12
0.16	4.10	3.80

Die Daten der Tabelle 2 bestätigen unsere früheren Beobachtungen, daß die Jodsorption mit wachsender Stärkekonzentration abnimmt. Dies kann zwei vollkommen verschiedene Gründe haben. Der eine Grund dürfte darin zu suchen sein, daß sich das Gleichgewicht in einer konzentrierteren Lösung langsamer einstellt. Dies beweist Abb. 6 mit den Ergebnissen einer amperometrischen Titration, bei der zwischen den einzelnen Ablesungen eine Wartezeit von 1 und 3 Minuten eingehalten wurde. Das ist aber noch keine ausreichende Erklärung. Der zweite Grund dürfte in der Oberflächenadsorption des aus der Lösung ausgefallenen Jodkomplexes zu finden sein. Bei der Betrachtung der bei unterschiedlichen Stärkekonzentrationen aufgenommenen Amperogramme

bzw. potentiometrischen Kennlinien (Abb. 7 und 8) kann nämlich festgestellt werden, daß mit wachsender Stärkekonzentration auch die Oberflächenadsorption zunimmt. Einen Beweis dafür liefern die Richtungstangenten der aufsteigenden Abschnitte der Amperogramme in Abb. 7, die mit wachsender Stärkekonzentration abnehmen, was eine zunehmende Oberflächenadsorption

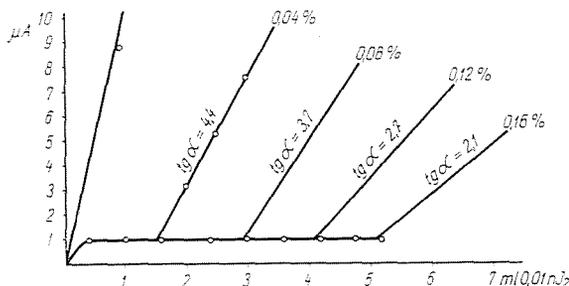


Abb. 7. Amperogramme von Stärkelösungen unterschiedlicher Konzentration

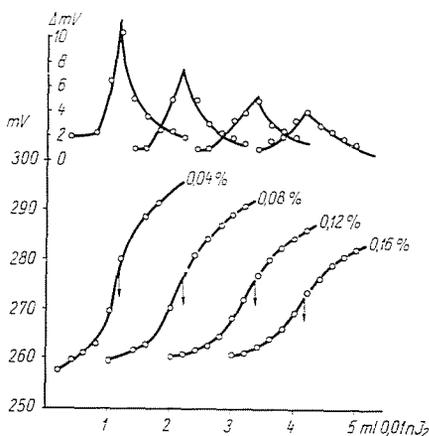


Abb. 8. Potentiometrische Titrationskurven von Stärkelösungen unterschiedlicher Konzentration und die zum Auswerten erforderlichen Differenzialkurven

bedeutet. Auch die in Abb. 8 dargestellten potentiometrisch aufgenommenen Titrationskurven bzw. die entsprechenden Auswertungskurven können als Beweis dienen. Die Titrationskurven zeigen mit wachsender Stärkekonzentration einen immer flacheren Verlauf, d. h. die Maxima der Auswertungskurven nehmen mit wachsender Stärkekonzentration ab (die 11,5 mV der 0,04%igen Lösung geht auf 4,3 mV bei der 0,16%igen Lösung zurück).

Um entscheiden zu können, ob bei der Oberflächenadsorption der Jod-Amylosekomplex oder das Amylopektin ausschlaggebend ist, wurde folgendes Experiment durchgeführt: 60 ml 0,015-, 0,030-, 0,045- und 0,060%ige Amylose-

lösung wurden mit 0,01 n-J₂-Lösung potentiometrisch titriert. Die Resultate sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die Jodadsorption auch hier mit wachsender Amylosekonzentration abnimmt. Die Gründe dafür sind die gleichen wie bei der Stärke. Das beweist auch die Abb. 9, in der die bei der Titra-

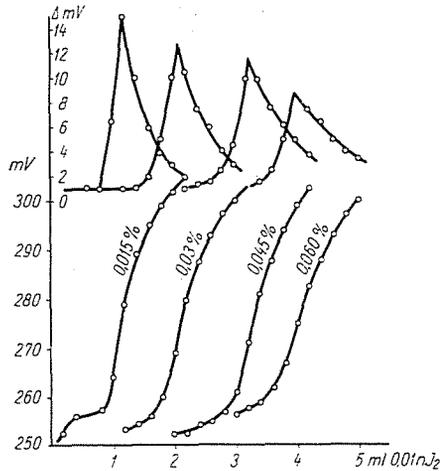


Abb. 9. Potentiometrische Titrationskurven von Amyloselösungen unterschiedlicher Konzentration und deren Differenzialkurven

Tabelle 3

Die Jodadsorption als Funktion der Amylosekonzentration

Amylosekonzentration %	Jodadsorption %
0,015	17,60
0,030	17,52
0,045	17,28
0,060	16,92

tion aufgenommenen potentiometrischen Kennlinien und die auswertenden Differenzialkurven aufgetragen sind. Aus der Abbildung ist zu ersehen, daß die Dinge hier wieder ähnlich wie bei der Stärke liegen, denn auch hier verlaufen die potentiometrischen Kennlinien zunehmend flacher, die Maxima der Differenzialkurven nehmen also mit wachsender Amylosekonzentration ab. Dies ist ein Beweis dafür, daß es die wachsende Amylosekonzentration ist, mit der die Oberflächenadsorption des aus der Lösung ausgefallenen Jodkomplexes zunimmt. Daneben spielt aber auch der Umstand eine Rolle, daß auch die

Korngröße des Niederschlages mit wachsender Amylosekonzentration zunimmt, wodurch die Jodsorption abnimmt.

Die beschriebenen Experimente liefern auch dafür einen Beweis, daß die Oberflächenadsorption des Amylopektins bei dieser Messung von geringerer Bedeutung ist als die Oberflächenadsorption des aus der Lösung ausgefallenen Jod-Amylosekomplexes.

3.3. Einfluß des Volumens der zu titrierenden Lösung

Der Einfluß der Änderungen des Volumens der zu titrierenden Lösung auf die Jodsorption wurde folgendermaßen untersucht: Es wurden 60, 80, 100 und 120 ml Proben mit einem Stärkegehalt von je 80 mg mit einer 0,01 n-J₂-Lösung amperometrisch titriert. Sämtliche Muster waren 0,1 normal salzsauer. Die Resultate beweisen, daß die gemessene Jodsorption in diesem Bereich von dem Volumen unabhängig ist. Bei der potentiometrischen Titration erhielten wir dasselbe Resultat, wenn wir in einem Bereich von 40 bis 85 ml titrierten und die Lösung, bezogen auf KJ, 0,05 n war.

3.4. Vergleich der Methoden der Jodsorptionsmessung

Nach eingehendem Studium des Einflusses der verschiedenen Faktoren auf die Meßresultate wurde die Genauigkeit aller drei Methoden unter Verwendung gleicher Muster sowie die Abweichungen der Endresultate untersucht.

Tabelle 4

Berechnung der Fehler bei der amperometrischen und potentiometrischen Titration

	Amperometrische Titration %	Potentiometrische Titration %
Durchschnittsfehler	±0,089	±0,115
Durchschnittsfehler des Mittelwertes	±0,036	±0,047
Relativer Fehler des Mittelwertes	±0,86	±1,12

Sieben gleiche Proben wurden sowohl amperometrisch als auch potentiometrisch titriert. Die aus den Jodsorptionswerten errechneten Fehler faßt Tabelle 4 zusammen.

Wie ersichtlich, ist die amperometrische Titration genauer als die potentiometrische. Der Grund hierfür ist darin zu suchen, daß zwischen μA und ml J₂ bei der amperometrischen Titration linearer Zusammenhang besteht,

während der Zusammenhang zwischen mV und ml J_2 bei der potentiometrischen Titration logarithmisch ist.

Die Jodsorption gleicher Amyloseproben wurde nach beiden Methoden gemessen, wobei wir bei der potentiometrischen Titration eine um etwa 0,7% geringere Jodsorption erhielten als bei der amperometrischen Titration (Tabelle 5). Es darf angenommen werden, daß dieser Unterschied auf die verschiedenen KJ-Konzentrationen zurückzuführen ist. Bei der potentiometrischen Titration ist nämlich sowohl die Amylozelösung wie auch die Meßlösung

Tabelle 5

Jodsorptionswerte von Amylose bei amperometrischer und potentiometrischer Titration (in $J_2\%$)

Nr.	Potentiometrische Titration	Amperometrische Titration	
		ohne KJ	mit KJ
1.	17.80	18.48	17.75
2.	17.70	18.42	17.72
3.	17.93	18.57	17.90

in bezug auf KJ 0,05 n. Bei der amperometrischen Titration gelingt KJ demgegenüber nur mit der Meßlösung in die Lösung, wodurch sich eine wesentlich niedrigere KJ-Konzentration ergibt als 0,05 n. Andererseits ist bekannt, daß die die Jodsorption vermindernde Wirkung der Jodidionen bei kleinen Jodidionen-Konzentrationen erheblich ist [3]. Diese Theorie wurde auch von uns bestätigt, da wir gleiche Resultate erzielten wie bei der potentiometrischen Titration, sobald wir auch bei der amperometrischen mit einer 0,05 normalen Jodidionen-Konzentration arbeiteten (Tabelle 5). Es sei an dieser Stelle bemerkt, daß wir eben wegen der Jodidionen zwar in keinem Fall die absoluten Jodsorptionswerte gemessen haben, bei der amperometrischen Titration jedoch diesen Werten sehr nahe gekommen sind.

Es wurde untersucht, ob die beiden Methoden auch bei der Titration von Stärke Anwendung finden können und ob auch hier der bei der Amylose beobachtete »Jodidionen-Effekt« auftritt. Die Meßresultate sind in Tabelle 6 zusammengefaßt.

Die Tabelle 6 zeigt, daß die Wirkung der Jodidionen auch hier zur Geltung kommt und daß beide Methoden nahezu gleiche Resultate liefern.

Die photometrische Methode eignet sich nur zur Bestimmung der Amylose bzw. der Stärkekonzentration, nicht aber zur Messung der Jodsorption. Um also alle drei Methoden miteinander vergleichen zu können, haben wir den Amylosegehalt gleicher Stärkeproben bestimmt. Bei potentiometrischen und amperometrischen Messungen ergibt sich der Amylosegehalt als Quotienten der Jodsorption der Stärke und der reinen Amylose. Bei photometrischen Mes-

sungen dagegen wird der Amylosegehalt aus dem Kalibrationsdiagramm abgelesen. Die Messungen wurden mit dem *Lange*-Photometer [19] durchgeführt. Die nach den drei Methoden bestimmten Werte für den Amylosegehalt in Tabelle 7 zeigen, daß alle drei Methoden nahezu identische Resultate ergeben. Die größte Abweichung erscheint bei der photometrischen Methode, bei der der Jodidionen-Effekt nicht zur Geltung kommt, weil die Jodidionen

Tabelle 6

Jodsorptionswerte von Stärke durch amperometrische und potentiometrische Titration (in J₂%)

Nr.	Potentiometrische Titration	Amperometrische Titration	
		ohne KJ	mit KJ
1.	4.21	4.36	4.18
2.	4.23	4.42	4.20
3.	4.27	4.40	4.28

Tabelle 7

Bestimmung des Amylosegehaltes von Stärke

Methode	Jodsorption von Stärke %	Jodsorption v. Amylose %	Extinktion	Amylosegehalt %
Potentiometrische Titration	4.24	17.81	—	23.81
Amperometrische Titration mit KJ	4.22	17.79	—	23.72
Amperometrische Titration ohne KJ	4.39	18.49	—	23.74
Photometrische Methode	—	—	0.325	24.00

bei der Messung der Jodsorption von Stärke und von Amylose die gleiche Wirkung ausüben, was auch daraus hervorgeht, daß diese Abweichung beim Dividieren entfällt.

Auf Grund der von uns durchgeführten Versuche kann von den verschiedenen Bestimmungsmethoden folgendes festgestellt werden:

1. Die amperometrische Titration ist die genaueste Methode zur Messung der Jodsorption. Die Titrationskurve kann, dank dem linearen Zusammenhang, leicht und genau ausgewertet werden. Die Gegenwart fremder Ionen stört die Titration nicht. Die Lösung braucht kein KJ zu enthalten, wodurch der ermittelte Wert der tatsächlichen Jodsorption sehr nahe kommt.

2. Der Vorzug der potentiometrischen Titration besteht darin, daß die Titrationseinrichtung einfach ist und leicht zusammengesetzt werden kann und daß für die Anzeige ein einfacher p_H-Meter genügt. Ihr Nachteil besteht darin, daß die Titrationskurven wegen des logarithmischen Zusammenhanges weniger leicht auszuwerten sind. Das Titrieren kann nur bei konstanter Salz-

konzentration durchgeführt werden. Wegen der bei der Titration erforderlichen verhältnismäßig hohen KJ-Normalität von 0,05 liefert das Verfahren zu geringe Jodsorptionswerte. Die Methode ist weniger genau als die amperometrische.

3. Die photometrische Methode ist die am wenigsten genaue und auch die gegen die Anwesenheit fremder Stoffe empfindlichste. Im Hinblick auf den geringen Zeitbedarf ist diese Methode jedoch zur Vornahme orientierender Messungen geeignet.

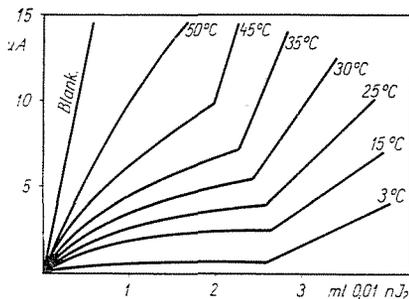


Abb. 10. Bei verschiedenen Temperaturen aufgenommene amperometrische Titrationskurven

4. Die Jodbindung beeinflussende Faktoren

Die zur Bestimmung des Jodbindevermögens geeignete Methoden ermöglichen auch die Prüfung der die Jodbindung beeinflussenden Faktoren. Die Kenntnis dieser Faktoren ist nämlich für die Klärung des Reaktionsmechanismus unerlässlich.

Weitgehend temperaturabhängig ist sowohl die Menge des bindbaren Jods [4, 12, 14] wie auch die mit dem gebundenen Jod das Gleichgewicht haltende freie Jodkonzentration. Die Kennlinien von amperometrischen Titrationen bei verschiedenen Temperaturen gemäß Abb. 10 lassen erkennen, daß die Länge des waagrechten Abschnittes, also die Menge des gebundenen Jods, noch kaum eine Verkürzung zeigt, während die Gleichgewichts-Konzentration des freien Jods bereits bedeutend zugenommen hat. Eben die Temperaturabhängigkeit der Gleichgewichts-Konzentration des freien Jods ist es, die uns — worauf wir im weiteren Verlauf dieser Abhandlung noch zurückkommen werden — die Berechnung der Aktivierungswärme ermöglichte.

Auch die Hydrolyse [3, 17, 23, 24] und die Retrogradation [25, 26, 27] verringern die Menge des bindbaren Jods. Der Einfluß von Komplexbildnern [16] (Alkohole etc.) sowie die Anwesenheit von Jodidionen, die Acetylierung [28] bzw. jedes beliebige Modifizieren [29, 37, 38] vermindern die Menge des bindbaren Jods gleichfalls.

5. Das Entstehen des Amylose-Jodkomplexes

Unter der Ausgestaltung des Jodkomplexes ist im allgemeinen der erste, d. h. der absorptive Abschnitt der Jodaufnahme zu verstehen, die nach einem ganz speziellen Mechanismus abläuft.

Um diesen Mechanismus richtig begreifen zu können, muß auf die amperometrische Titrationskurve zurückgegriffen werden. Der erste Abschnitt derselben liegt oberhalb der Abszisse und steigt geringfügig an. Das bedeutet, daß im System auch vor dem Endpunkt der Titration freies Jod vorhanden ist,

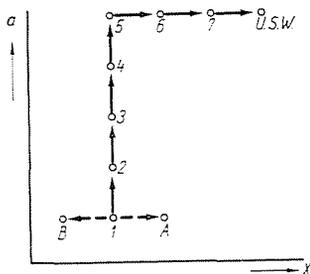


Abb. 11. Schema der Ausgestaltung der Isotherme

dessen Konzentration im Zuge der Jodaufnahme zunimmt. Der Gleichgewichtszustand der Sorption verschiebt sich, dem Endpunkt zustrebend, in Richtung der größeren freien Jodkonzentration; nach Überschreiten des Endpunktes wird aber diese freie Konzentration durch nahezu die ganze Menge des neuerlich zugesetzten Jods erhöht.

Um den Mechanismus besser verständlich machen zu können, sei in einem Gedankenexperiment angenommen, daß wir einer einen Adsorbenten »a« enthaltenden Lösung eine Menge des Adsorptivs »b« zusetzen, die den Adsorbenten vollkommen sättigt. Jede weitere zugesetzte Adsorptivmenge wird somit überschüssig sein. Den eintretenden Gleichgewichtszustand präsentiert in dem Koordinatensystem gemäß Abb. 11 der Punkt 1. Die Abszisse: die freie Gleichgewichts-Konzentration, ausgedrückt in Normalität; die Ordinate das gebundene Adsorptiv in einer absoluten Maßeinheit, z. B. in »g« ausgedrückt, nicht also, wie allgemein üblich, auf die Einheitsmenge des Adsorbenten bezogen. Setzen wir nun dem in Gleichgewicht befindlichen System weitere Adsorptivmengen zu, so gelangen wir zu dem Punkt »A« (Abb. 11). Setzen wir dem System kein Adsorptiv, dafür aber weitere Mengen des Adsorbenten zu, so gelangen wir zu dem Punkt »B«. Setzen wir nun dem System beide zu, und zwar in einem solchen Verhältnis, daß das Adsorptiv den gleichzeitig zugesetzten Adsorbenten eben sättigt, so gelangen wir zum Punkt 2. Durch weiteres Zusetzen dieser Art gelangen wir zu den Punkten 3, 4, 5. Nehmen wir nun an, daß der Adsorbent nach dem Erreichen des Punktes 5

verbraucht ist, und weiterhin nur Adsorptivmengen zugesetzt werden können, so gelangen wir in diesem Falle zu den Punkten 6, 7 usw.

Dieses Gedankenexperiment ist ein geeignetes Modell für den waagrechteten Abschnitt unseres Amperogramms. Die Jodaufnahme der Amylose-Moleküle ist nämlich — wie hierauf RUNDLE verwiesen hat —, keinsimultaner Prozeß. Sobald das Auffüllen einer Spirale begonnen hat, setzt das Auffüllen der nächsten Spirale erst dann ein, wenn das Auffüllen der ersten Spirale beendet ist. Das hat also mit dem Gleichgewicht nichts gemein. Wird das Niveau der zur Sättigung der längsten Spirale erforderlichen Jodkonzentration überschritten, so beginnt das Auffüllen der nächstfolgenden Spirale niedrigeren Polymerisationsgrades. Da die mit dieser in Gleichgewicht befindliche freie

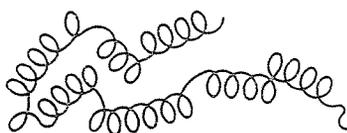


Abb. 12. Deformierte Spirale

Jodkonzentration aber schon höher ist, zeigt der erste Abschnitt des Amperogramms einen langsamen Anstieg.

Die Gleichgewichtskonzentration des freien Jods ist natürlich eine Charakteristik des Gleichgewichts. Mithin kann die Reaktionswärme aus dessen Temperaturabhängigkeit errechnet werden [4, 16]. Tragen wir den Logarithmus der Konzentration als Funktion des Kehrwertes der absoluten Temperatur auf, so ergibt sich eine Gerade, aus deren Richtungstangente die Reaktionswärme zu $-17,2$ kcal/mol errechnet werden konnte [4]. GILBERT und MARRIOTT [9] bestimmten diesen Wert zu $11,2$ kcal/mol, DUBE [30] zu $19,6$ kcal/mol.

Aus dem bisher Gesagten geht nicht hervor, zu welchem Zeitpunkt die Amylose eine Spiralstruktur annimmt. Befinden sich bereits in der Lösung Amylosemoleküle spiraler Struktur oder orientiert sich der systemlos gewundene Kettenknäuel zu einer Spirale erst unter der Einwirkung der komplexbildenden Jodmoleküle?

Es ist unmöglich, im Rahmen dieser Arbeit auf jene Tatsachen einzugehen, die schließlich zu der Schlußfolgerung führten, daß

a) das höchste Energieniveau die vollkommen gestreckte Kette repräsentiert, daß

b) das mittlere Energieniveau die ganz regelmäßige Spiralstruktur bedeutet und daß

c) das niedrigste Energieniveau die obenstehende Struktur repräsentiert (Abb. 12).

Die Moleküle ordnen sich unter der Einwirkung komplexbildender Moleküle zu regelrechten Spiralen, ohne daß der Energiegehalt der Moleküle eine wesentliche Änderung erfahren würde, zumal eine Rotation lediglich um die C—O—C-Bindungen vorkommt. Die Ringe sind im allgemeinen sechsgliedrig.

6. Die Struktur des Amylose-Jodkomplexes

6.1. Die bindbare Jodmenge vermindernde Faktoren

Die Jodaufnahme durch die Amylose erfolgt in der bereits beschriebenen Weise; dies liefert aber noch keine Erklärung dafür, warum die Gleichgewichtskonzentration des freien Jods vom Polymerisationsgrad abhängt. Um diese

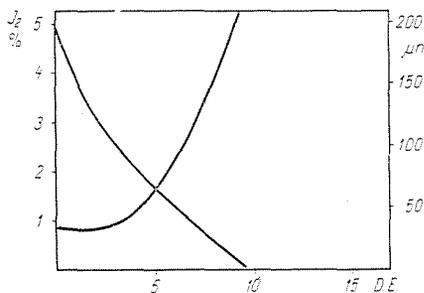


Abb. 13. Änderungen des Jodbindevermögens von Amylose und der freien Gleichgewichtskonzentration von Jod als Funktion des Ausmaßes der Hydrolyse

Frage klären zu können, muß zunächst untersucht werden, nach welchem Mechanismus die die Menge des bindbaren Jods beeinflussenden Faktoren ihre Wirkung ausüben.

Dieser Mechanismus konnte durch Prüfung der die Jodsorption vermindernenden Wirkung der Hydrolyse, der Alkohole und der Jodidione geklärt werden. Aus Abb. 13 ist ersichtlich, wie die Hydrolyse die Menge des bindbaren Jods vermindert und wie die mit dem gebundenen Jod im Gleichgewicht befindliche freie Jodkonzentration zunimmt. Aus der Abbildung ist zu ersehen, daß die bindbare freie Jodmenge im Anfangsstadium der Hydrolyse schon beträchtlich abnimmt, während die Gleichgewichtskonzentration des freien Jods noch kaum eine Zunahme erfahren hat. Dies deutet darauf hin, daß mit zunehmendem Polymerisationsgrad die Stabilität des Komplexes nach Überschreiten eines gewissen Wertes nur noch unwesentlich ansteigt. Nach SVANSSON [32] beträgt der Polymerisationsgrad der zum stabilen Binden von Jod noch fähigen kürzesten Amyloseketten 30—35, nach BAILEY und Mitarbeitern [33] aber nur 10.

Die bindbare Jodmenge sinkt auch unter der Einwirkung von Alkohol. Titriert man eine Stärkelösung in Anwesenheit von Alkohol und Jod, so erhält man eine ähnliche Titrationskurve wie bei Titration einer teilweise hydrolysierten Probe. Der Umstand, daß die bindbare Jodmenge abnimmt, weist darauf hin, daß sich auch Alkohole in die Spiralen einbauen und einen Teil der durch Jod zu besetzenden Stellen einnehmen können, doch fällt so auf, daß nicht nur die bindbare Jodmenge abnimmt, sondern gleichzeitig — ebenso wie in ähnlichen Fällen bei der Hydrolyse — auch die Gleichgewichtskonzentration des freien Jods wächst. Dieser letztere Umstand scheint zu beweisen,

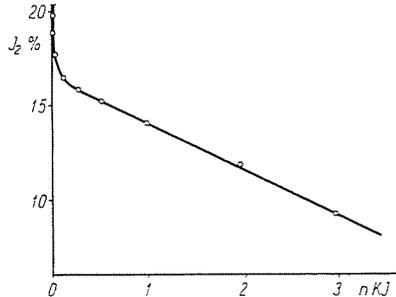


Abb. 14. Das Jodbindevermögen von Amylose als Funktion der Jodidionenkonzentration

daß wir es mit der Abnahme des Polymerisationsgrades zu tun haben. Eine Hydrolyse ist in diesem Falle ausgeschlossen. Der Rückgang des Polymerisationsgrades bezieht sich also nicht auf die Amylosekette selbst, sondern lediglich auf die in der Spiralachse sich ausgestaltende Polyjodkette. ONO und Mitarbeiter [34] vertreten die Ansicht, daß der Polymerisationsgrad der Amylose nur die obere Grenze der Gliederzahl der Polyjodkette bestimmt, da im idealen Fall auf je sechs Glukoseeinheiten ein Jodmolekül entfallen kann. In einer langen Amylosespirale können auch mehrere kürzere Polyjodketten zustandekommen, wenn diese voneinander auf irgendeine Art separiert werden. Dies besorgen die Alkoholmoleküle. Dasselbe bezieht sich auch auf die Jodidionen. Aus Abb. 14 ist ersichtlich, auf welche Weise die bindbare Jodmenge von der Konzentration der Jodidionen abhängt.

Die Klärung der Rolle der Jodidionen ist für die Klarstellung der Komplexstruktur von ausschlaggebender Bedeutung. Zur Blaufärbung ist die Anwesenheit von Jodid eigentlich nicht erforderlich, da jedoch Jodlösungen meistens auch Jodidionen enthalten, sind Jodidionen ein wesentlicher Teil des entstehenden Komplexes. GILBERT und MARRIOTT [9] haben festgestellt, daß das im Komplex gebundene Jod in keinem konstanten Verhältnis zum Jodid steht. Bei niedrigen Jod- und Jodidaktivitäten ist das $3 J_2 \cdot 2 J^-$, d. h. das J_3^{2-} -Ion stabil. Auf Grund spektrophotometrischer Messungen ist FRENCH [35] zu dem gleichen Resultat gelangt. Bei großer Jodidkonzentrationen tendiert die

Polyjodkette zur J_3^- -Zusammensetzung, durch die Zunahme der Jodaktivität bei gegebener Jodkonzentration wächst aber die Zahl der auf ein Jodid entfallenden Jodatome. Eine Abnahme der Konzentration der Jodidionen bewirkt das Ansteigen der bindbaren Jodmenge. Die Jodsorption einer Amyloseprobe wurde — durch amperometrische Titration mit der üblichen KJ-enthaltenden Jodmeßlösung — mit 19,3% ermittelt. Bei Zusetzen von festem Jod in die wäßrige Lösung derselben Amylose nahm diese nach einigen Tagen 24,1% Jod auf. Demzufolge ist die Ausgestaltung von $3 J_2 \cdot 2 J^-$ nur im Falle entsprechenden Jodids möglich. Aus all dem kann die Schlußfolgerung abgeleitet werden, daß das Jod/Jodid-Verhältnis innerhalb des Komplexes kein konstantes ist, vielmehr von den jeweiligen Umständen abhängt.

Daß der Grenzwert der Jodsorption durch die Amylose bei der Bindung der Joddämpfe 25—26% beträgt, ist bekannt. Es fällt hierbei auf, daß die bindbare Jodmenge in der Naßlösung nur auf 19—20% zu stehen bekommt, was deshalb interessant ist, weil der letztgenannte Wert etwa $\frac{3}{4}$ der maximal bindbaren Jodquantität ausmacht. Wenn wir weiterhin in Betracht ziehen, daß die bindbare Jodquantität bei gänzlicher Abwesenheit von Jodidionen — auch in der Naßlösung — etwa 24% ausmacht, dann erscheint der Verdacht begründet, daß in einer das KJ in nicht allzu starker Konzentration enthaltenden Naßlösung das Jod eben deshalb nur zu 19—20% bindbar ist, weil die sich einbauenden Jodidionen gemäß dem Verhältnis $3 J_2 \cdot 2 J^-$ rund 25% der jodbindenden Stellen besetzt haben.

ONO und Mitarbeiter untersuchten die Frage, wie das Absorptionsmaximum der Jodamyloسلösung mit der Jodidkonzentration zusammenhängt. STEIN und RUNDLE hatten schon vorher konstatiert, daß die Jodmoleküle im Inneren der Amyloسلspirale eine Polyjodkette von resonanter Struktur bilden. ONO und Mitarbeiter nahmen an, daß diese Kette ähnlich wie die Polyenen die hochgradige Lichtabsorption zu verursachen vermögen, weshalb sie versuchten, die von KUHN für die Polyene vorgeschlagene Gleichung auch auf die Jod-Amylose anzuwenden. Die KUHNsche Gleichung lautet:

$$\lambda_{\max} = \left[\frac{V_0}{hc} \left(1 - \frac{1}{N} \right) + \frac{h}{8mc} \cdot \frac{N+1}{L^2} \right]^{-1},$$

in der

λ_{\max} = die Wellenlänge des Absorptionsmaximums,

L = die Länge der Resonanzketten,

N = die Zahl der Elektronen,

h = das Plancksche Wirkungsquantum,

m = die Masse der Elektronen,

c = die Lichtgeschwindigkeit,

V_0 = ein Perturbationsparameter.

Daß zusammen mit der Verkürzung der Amylosekette auch die Wellenlänge des Absorptionsmaximums abnimmt, ist eine bekannte Tatsache. Durch Substituierung der Versuchsdaten in die KUHNSche Gleichung erhielten ONO und Mitarbeiter mit der obengenannten Tatsache übereinstimmende Resultate.

ONO und Mitarbeiter wandten die Kuhn'sche Gleichung an Hand des — laut des Mechanismus nach den Polyenen ähnelnden Lichtabsorptions-Prinzip — an, und untersuchten auf dieser Grundlage, inwiefern die Konzentration der Jodidionen die Länge der Polyjodkette beeinflußt. Sie hatten nämlich die Erfahrung gemacht, daß das Absorptionsmaximum bei wachsender Jodidkonzentration und damit die an Hand der Kuhn'schen Gleichung rechnerisch ermittelte Kettenlänge abnimmt.

Die Daten von ONO widerlegen die Vorstellung, daß die zunehmende Jodidkonzentration die durch die Amylose aufnehmbare Jodquantität deshalb vermindert, weil die sich bildenden J_3^- -Ionen wegen ihrer Größe in den Spiralen keinen Platz haben. Es baut sich nämlich auch das Jodidion in die Kette ein, und an der Stelle des Einbaues bricht die Polyjodkette. Die rechnerisch ermittelten Kettenlängenwerte sind nur auf diese Weise erklärlich!

Nach den Untersuchungen der genannten Autoren verhalten sich die Alkohole ähnlich wie die Jodidionen.

6.2. Struktur der resonanten Polyjodkette

Aus dem Gesagten ist klar ersichtlich, daß die Gleichgewichtskonzentration des freien Jods von der Gliederzahl der sich bildenden resonanten Polyjodkette abhängt, was sich daraus erklärt, daß mit wachsender Gliederzahl der resonanten Polyjodkette auch die Stabilität der Kette zunimmt. Vermutlich superponieren sich die Dipolmomente der einzelnen Moleküle, so daß das resultierende größere Dipolmoment eine größere Stabilität der Polyjodkette und mithin eine geringere Gleichgewichts-Jodkonzentration zur Folge hat.

In diese Richtung weist andererseits auch die Tatsache, daß unter einer gewissen Grenze (10—30 Glukoseeinheiten) keine Blaufärbung mehr entsteht, offenbar weil das resultierende Dipolmoment zu klein ist. Nach BAILEY und Mitarbeiter nimmt auch das BV-Verhältnis gleich mit dem Polymerisationsgrad zu und erreicht nur bei einem Polymerisationsgrad von mehr als 140 einen konstanten Wert. Das α -Zyklodextrin (die Draufsicht des Kalottenmodells ist auf Abb. 15, die Seitenansicht auf Abb. 16 zu sehen) kristallisiert sich aus einer Wasser-Jodlösung mit etwa 25% Jodgehalt, und das Absorptionsspektrum ist mit dem Absorptionsspektrum der Jodstärkelösung konform. Nach dem Röntgendiagramm des α -Zyklodextrin-Jodkomplex-Kristalls haben die Jodeinheiten voneinander einen Abstand von 3,06 Å.

Laut CRAMER [36] beträgt der gegenseitige Abstand der in die Polyjodkette sich einbauenden Jodmoleküle 3,06 Å, was zwischen den Normalabstand

von $2,66 \text{ \AA}$ und den Abstand von $3,4 \text{ \AA}$ fällt, wie er dem dem Emissionsbeginn zugeordneten, maximal erregten Zustand entspricht.

Demnach ist die Existenz singulärer Jodmoleküle nicht wahrscheinlich, wohl aber das Vorhandensein von Kettenmolekülen mit einer Periodenzahl

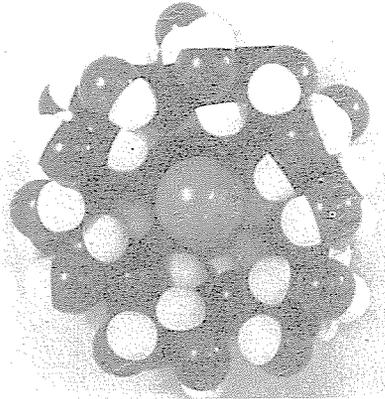


Abb. 15. Kalottenmodell eines Schardingerschen α -Zyklodextrinjodkomplexes in Draufsicht (Cl-Konformation)

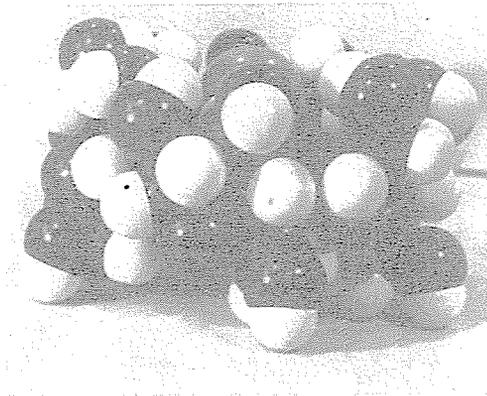


Abb. 16. Dasselbe Modell in Seitenansicht (Cl-Konformation)

von $3,06 \text{ \AA}$. Diese Modifikation des Jods wird durch CRAMER als »Blau-Jod« bezeichnet. Aus der Stellung des Jods im periodischen System ist eine Neigung zur Kettenmolekülebildung zu vermuten, bilden doch das benachbarte Selen und Schwefel mit Leichtigkeit Polyselenide und Polysulfide.

Das Zustandekommen der charakteristischen Blaufärbung erklärt CRAMER damit, daß die Kettenmoleküle des Jods eine einzige resonante Einheit (Abb. 17) mit einem stark aufgelockerten Elektronensystem bilden. Dieses System kann als ein eindimensionales Elektronengas betrachtet werden, so daß

die Stelle des Absorptionsmaximums rechnerisch ermittelt werden kann. CRAMER und HERBST [37] haben für Polyjodmoleküle verschiedener Gliederzahl die Maximastellen berechnet und dabei festgestellt, daß der gemessene Wert von 6200 Å mit dem für eine Gliederzahl von 14–15 errechneten Wert übereinstimmt.



Abb. 17. Struktur der resonanten Polyjodkette

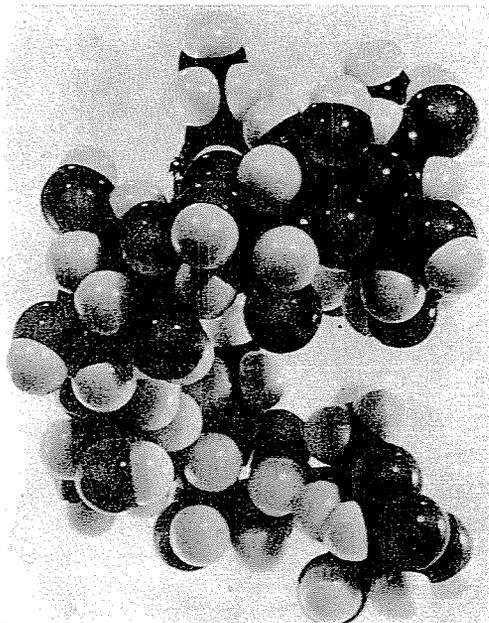


Abb. 18. Seitenansicht einer aus Glykopyranosidringen der B₁-Konformation aufgebauten Amylospirale

Das Vorhandensein von Polyjodketten beweisen auch potentiometrisch durchgeführte Titrations, denen zufolge das Jod, wenn man es einer Lösung von α -Zyklodextrin zusetzt, ebenso gebunden wird wie bei Stärke. Die Lösung bleibt jedoch trotz der Jodaufnahme nur braun und beginnt sich erst dann blau zu verfärben, wenn die Kristallisation des Komplexes einsetzt, d. h. wenn sich mehrere Jodmoleküle nebeneinander ordnen. Bei der Amylose besteht hierzu bereits im gelösten Zustand die Möglichkeit. Die in ihrer ganzen Länge resonante Polyjodkette ist in Abb. 17 dargestellt.

Die Verbindung zwischen der Polyjodkette und der diese umgebenden Amylospirale bildete den Gegenstand der Untersuchungen verschiedener Autoren. Nach FREUDENBERG [38] löst sich das in die Spiralen eingekeilte Jod in der Kohlenhydratschicht der Umgebung auf.

Das wäre möglich bei einer aus Glykopiranosideinheiten der Konformation B1 aufgebauten Spirale, die in ihrem Inneren nur Wasserstoffatome enthält. Die Seitenansicht sowie die Draufsicht eines Teiles einer solchen Spirale sind aus den Abbildungen 18 und 19 ersichtlich.

In Kohlenwasserstoff-Lösungsmitteln gibt das Jod eine violette Färbung. Die Molekularextinktion von Jodstärke [39] und die Stelle des Adsorptionsmaximums unterscheiden sich indessen von jenen der Jodlösungen in Kohlenwasserstoffen. Die B1 Konformation ist übrigens ohnehin unwahrscheinlich.

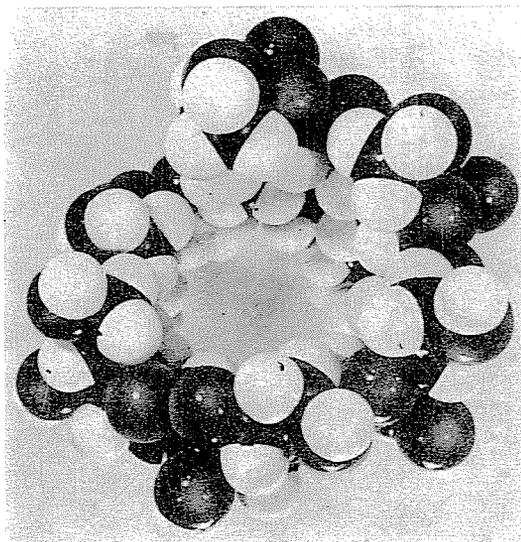


Abb. 19. Draufsicht einer aus Glykopyranosidringen der Konformation B1 aufgebauten Amylosespirale. Die Wasserstoffatome finden sich im Inneren der Spirale

Andere vertreten die Ansicht, daß eine reguläre Hauptvalenzbindung zustande kommt. Die aus der Temperaturabhängigkeit der Gleichgewichtskonzentration des freien Jods berechnete Reaktionswärme läßt diese Annahme aber nicht als wahrscheinlich erscheinen. Die Energie einer Hauptvalenzbindung zwischen Wasserstoff und Jod beträgt nämlich 70,4 kcal/mol [40], während sie zwischen Jod und Stärke nur 17,2 kcal/mol ausmacht.

Es muß ferner beachtet werden, daß Amylose in gesättigtem Zustand 26,2% Jod zu binden vermag, d. h. daß auf je sechs Glukoseeinheiten ein Molekül Jod entfällt. Der Wert der Reaktionswärme (11 000 bis 19 000 kcal/mol) macht also die Entstehung eines Komplexes mit Wasserstoffbindungen wahrscheinlich.

Eine Wasserstoffbindung kann in diesem Fall lediglich zwischen den Elektronen der Jodmoleküle und den sekundären Hydroxylen der Glukoseeinheiten dargestellt werden. Der Komplextheorie von den Wasserstoffbindungen scheint auch der Umstand zu widersprechen, daß Jod ein sehr schwa

ches, Wasserstoffbindungen bildendes Agens ist, weshalb es nicht wahrscheinlich erscheint, daß zur gleichen Zeit alle möglichen Bindungen existieren können.

Verschiedene Autoren haben darauf hingewiesen, daß Jod mit Donator-Molekülen Komplexe folgender Art bilden kann:

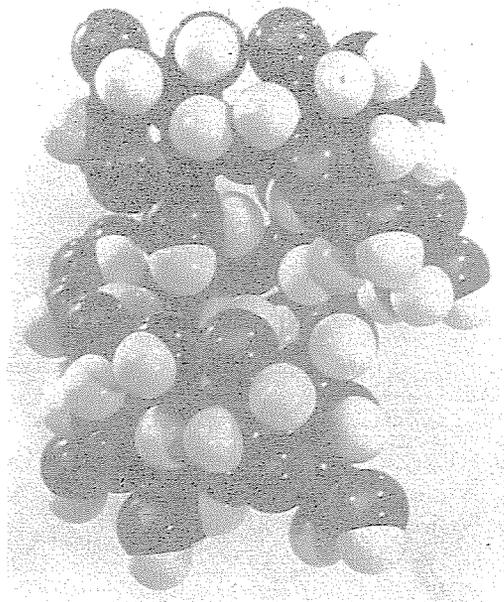
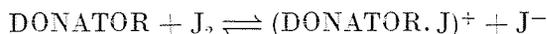


Abb. 20. Aus Glykopyransidringen der Konformation C1 aufgebaute Amylospirale in Seitenansicht

Auch CRAMER hält einen solchen »Charge-transfer«-Komplex-Mechanismus für wahrscheinlich.

Die beiden Standpunkte — die Wasserstoffbindungstheorie und die »Charge-transfer«-Komplex-Theorie — können wahrscheinlich in Übereinstimmung gebracht werden. Eine solche Ladungsänderung kann sich nämlich, wenn diese nicht nur zwischen den Jodmolekülen stattfindet, unter Mitwirkung der Hydroxyle abspielen.

Teilweise wird dies dadurch bewiesen, daß die bindbare Jodmenge unter der Einwirkung einer Acetylierung rapid sinkt [28]. Die Zunahme des Acetylgehaltes bewirkt natürlich in erster Linie, daß sich die Amylosekette infolge der verhältnismäßig großen Acetylgruppe nicht zu einer Spirale formen kann. Hieraus aber folgt, daß sich die acetylierten Hydroxyle teilweise in einer Konfiguration befinden, in der sie, nachdem sich die Spiralen bereits geformt haben, ihren Platz innerhalb der Spiralen, d. h. in Richtung des Jods finden.

Dies kann nur bei den aus Glykopyranosidringen der C1-Konformation aufgebauten Spiralen vorkommen (Abb. 20 und 21).

Da die in ihrer ganzen Länge resonante Polyjodkette einer Wechselwirkung mit den Hydroxylgruppen nicht ausweichen kann und andere beachtliche reaktive Gruppen in der Nähe nicht vorhanden sind, scheint es möglich zu sein, daß das Jod, abweichend von den normalen Verhältnissen, dennoch Wasserstoffbindungen eingeht.

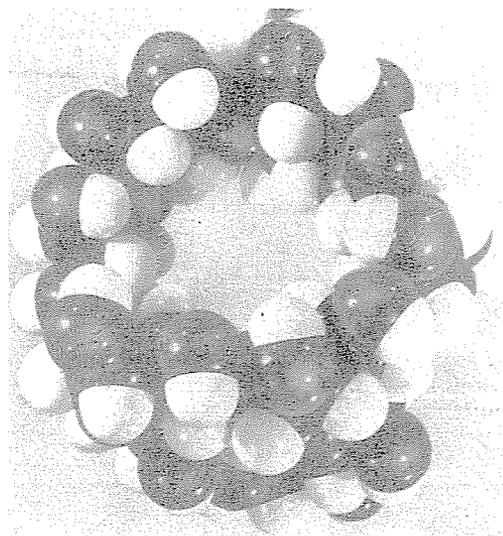


Abb. 21. Aus Glykopyranosidringen der Konformation C1 aufgebaute Amylosespirale in Draufsicht

Die Struktur des Amylose-Jodkomplexes ist daher, kurz zusammengefaßt, folgende: in der Achse der zu einer Spirale gewundenen Amylosekette nehmen 10- bis 20gliedrige Polyjodid-Molekülgruppen Platz.

Ein Kalottenmodell in der C1 Konformation eines aus 8 Glukoseeinheiten und einem J₂ Molekül bestehenden Teiles der Melekel zeigt Abb. 22.

Bei extrem niedriger Jodidkonzentration und bei tiefer Temperatur kann die Länge der Polyjodidketten wesentlich zunehmen, während unter der Einwirkung einer größeren Menge von Jodidionen, Alkohol oder sonstigen Komplexbildnern bzw. bei einem Temperaturanstieg der Polymerisationsgrad abnimmt. Aus diesem Grunde nimmt auch die Menge des gebundenen Jods ab, während die Gleichgewichtskonzentration des freien Jods ansteigt und das Absorptionsmaximum eine Verschiebung in Richtung der niedrigeren Wellenlängen erfährt.

Da der Polymerisationsgrad der Polyjodkette innerhalb der Spirale keinen genau definierten Wert hat, kann der Jodsorptionswert nur unter sehr genau identisch gehaltenen Umständen reproduziert werden.

Zwischen den in der Spiralachsen sich ausbildenden Polyjodketten bleibt eine kleinere oder größere Zahl der Windungen jodfrei. Die Moleküle sind an diesen Stellen flexibel und verhalten sich anders als die mit Jod gefüllten Teile.

Einen recht interessanten und die aufgezeigte Struktur des Jodkomplexes recht gut bestätigenden experimentellen Beweis bildet das Verhalten des Jodkomplexes gegenüber enzymatischen Einwirkungen.

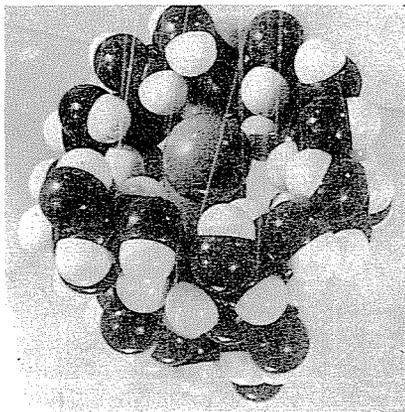


Abb. 22. Kalottenmodell eines aus acht Glykopyranosidringen der Konformation C1 aufgebauten Amylose-Jodkomplexes in Draufsicht

6.3. Beweis der Struktur des Komplexes durch enzymatischen Abbau

Wir bestimmten die Jodsorption einer Stärkelösung amperometrisch und setzten 80% der so ermittelten bindbaren Jodmenge einem anderen Teil der Stärkelösung zu. Derselben Lösung wurde ein Amylasepräparat bakteriellen Ursprungs zugesetzt. Amylasen pflanzlichen Ursprungs sind bei Anwesenheit von Jod nicht wirksam, weil sie durch die Oxydation ihrer S H-Gruppen mittels Jod inaktiviert werden, was im Falle der Amylasen bakteriellen Ursprungs, die solche Gruppen nicht enthalten, nicht der Fall ist.

Im Zuge der Hydrolyse wurden von Zeit zu Zeit Proben entnommen, in denen das Enzym inaktiviert und sodann das Jod entfernt wurde. Hierauf ermittelten wir das Ausmaß der Hydrolyse durch Bestimmung der Reduktionsfähigkeit. Ein anderer Teil der Probe wurde mit Alkohol ausgefällt, nach gründlichem Waschen in Alkohol neuerlich gelöst, die Alkoholspuren durch Vakuumdestillation entfernt, und das Jodbindevermögen sowie die Menge des durch den Alkohol ausgefällten Stoffes festgestellt [23].

In Abb. 23 sind die mengenmäßigen Änderungen des durch den Alkohol ausgefällten Stoffes als Funktion der Reaktionszeit dargestellt. Die Kurve strebt einem gut definierten Grenzwert zu, der bei etwa 20% liegt.

Berücksichtigt man, daß Kartoffelstärke etwa 25% Amylose enthält, von der 80%, d. h. also 20% der Gesamtstärke, mit Jod gesättigt wurden, so liegt der Gedanke nahe, daß der in Anwesenheit von Jod durch das Enzym nicht abgebaute Stoff reine Amylose ist. In derselben Abbildung ist auch die auf die ursprüngliche Konzentration bezogene Jodsorption aufgetragen. Wie ersichtlich, erreicht die Kurve bereits in 30 Minuten den Grenzwert, während die Trockenstoffkurve eine viermal so lange Zeit zum Erreichen des Grenzwertes

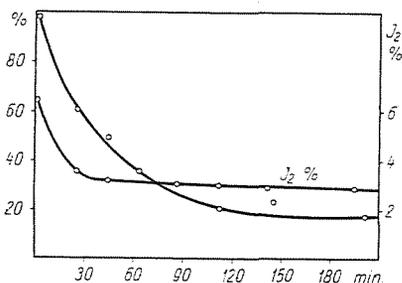


Abb. 23. Änderungen der mit Alkohol ausfällbaren Stoffmenge und deren Jodsorption bei enzymatischer Hydrolyse in Anwesenheit von Jod

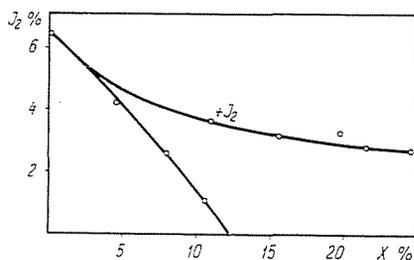


Abb. 24. Die Änderungen des Jodbindevermögens im Zuge des enzymatischen Abbaus in Abwesenheit und Anwesenheit von Jod (+J₂)

braucht. Dies bedeutet, daß die Abnahme der Jodsorption bereits aufgehört hat, während der Abbau noch im Gange ist, daß also der hydrolysierende Stoff nicht die Amylose sein kann. Dies beweist auch die Abb. 24: bei einer ohne Jod vorgenommenen Hydrolyse verschwindet das Jodbindevermögen bei 12%iger Hydrolyse (die gesamte Maltosemenge, die theoretisch entstehen kann, beträgt 12%), während bei einer in Gegenwart von Jod durchgeführten Hydrolyse die Jodsorption des durch Alkohol gefällten Stoffes einem Grenzwert zustrebt.

Die Abb. 25 veranschaulicht die amperometrischen Titrationskurven der Lösungen. Es fällt auf, daß die Kurven den Ablauf der Blindprobenkurve selbst nach langer Reaktionszeit nicht erreichen, daß sich der Vorgang vielmehr — nach einer anfänglichen raschen Abnahme — verlangsamt. Dage-

gen ist der Umstand beachtenswert, daß der Neigungswinkel des zweiten Abschnitts der letzten Titrationskurve mit dem Neigungswinkel der Blindproben-Kurve übereinstimmt, was eine für die Titrationskurven reiner Amylose charakteristische Erscheinung ist. Demzufolge kann es als erwiesen gelten, daß die kürzeren Amyloseketten, die das Jod nur locker zu binden vermögen, und die Amylopektin-Seitenketten aus dem System verschwunden sind.

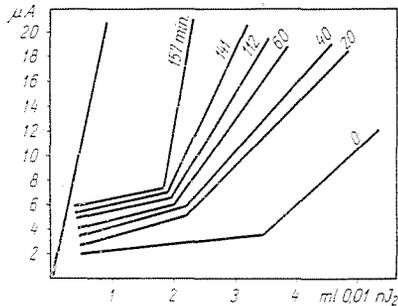


Abb. 25. Die amperometrischen Titrationskurven zu verschiedenen Zeitpunkten entnommener Proben bei der enzymatischen Hydrolyse in Anwesenheit von Jod

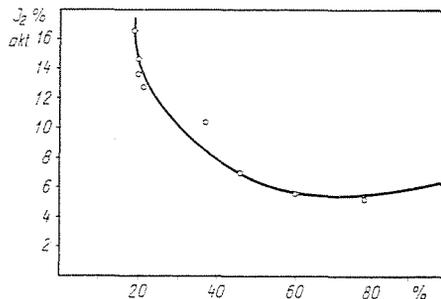


Abb. 26. Der Verlauf der Jodsorption, auf den durch Alkohol fällbaren Stoff bezogen, bei der in Anwesenheit von Jod durchgeführten enzymatischen Hydrolyse

Einen vollen Beweis für die Richtigkeit unserer bisherigen Ausführungen bietet die Abb. 26, in der die auf den Trocken-, d. h. auf den nicht zersetzten Stoff bezogene Jodsorption in Abhängigkeit von jenen in Prozenten ausgedrückten Stoffmengen aufgetragen ist, die durch Alkohol gefällt werden können. Aus dem Diagramm erhellt folgendes: mit fortschreitendem Abbau nimmt die Jodsorption eine Zeit lang, allerdings nur in geringem Maße ab. Dieser Abschnitt entspricht jener Phase, in welcher die Amylase die Hydrolyse der mit Jod nicht gesättigten Amylosemoleküle und der zum Binden von Jod ebenfalls fähigen Amylopektin-Seitenketten katalysiert. Die Abnahme der Jodsorption des durch Alkohol ausfällbaren Stoffes beginnt jedoch bald wieder

zuzunehmen. Dies ist gleichbedeutend damit, daß der Anteil der Amylose wieder steigt. Die Kennlinie steigt weiter rückwärts auf der Abszisse — nach oben — und erreicht einen Grenzwert, der gleichzeitig zwei Punkte definiert. Einerseits verbleiben etwa 20% des Stoffes — wie dies übrigens auch aus Abbildung 17 ersichtlich ist —, andererseits hat die Jodsorption dieses verbliebenen Stoffes 16% erreicht. Es ist anzunehmen, daß die Kurve bei weiterer Abnahme des Trockenstoffgehaltes um einige Zehntelprozent eine 19- bis 20%ige Jodsorption erreichen würde, doch bedürfte es hierzu einer unverhältnismäßig langen Reaktionszeit, weil die Reaktion zu diesem Zeitpunkt bereits außerordentlich langsam verläuft.

Diese Versuche haben wir wiederholt, indem wir Amylose verschieden stark mit Jod sättigten; im Verlauf der Hydrolyse ist aber stets die gesättigte Amylosemenge zurückgeblieben.

Die saure Hydrolyse des Jodkomplexes führte in jeder Beziehung zu identischen Resultaten: auch Säure vermag nur die durch Jod nicht geschätzte Amylose und das Amylopektin zu hydrolysieren.

Die Resultate stehen im vollen Einklang mit der dargestellten Struktur des Jodkomplexes. Jod bildet, indem es sich in das Innere der Amylospiralen einbaut, einen Komplex von fester Struktur. Es scheint aber, daß auch die Elektronenstruktur der Glykosidbindungen durch die Gegenwart des resonanten Polyjods beeinflusst wird, weil die Hydrolyse unterbunden zu sein scheint. Da jedoch in den Spiralen — dank den Jodidionen — »Schwachstellen« vorkommen, an denen die resonante Polyjodkette eine Unterbrechung erfährt und einige Windungen jodfrei bleiben, zersplittern sich die längeren Spiralen in mehrere kürzere, zum stabilen Binden von Jod aber noch ausreichend polymerisierte Teile. Dies beweist die Abbildung 25, in der die Höhe des ersten Abschnittes des Amperogramms, die mit der mit dem gebundenen Jod Gleichgewicht haltenden freien Jodkonzentration in direktem, mit dem Polymerisationsgrad also in umgekehrtem Verhältnis steht, immer höher zu liegen kommt. Der Polymerisationsgrad der Spiralen nimmt also im Zuge der Hydrolyse ab.

Zusammenfassung

Die Amylosekomponente der Stärke nimmt das Jod in zwei Etappen auf: in der ersten Etappe wird das Jod durch das Innere der Spiralen gebunden, die zweite Etappe hingegen besteht aus einer Adsorption auf der Oberfläche. Die Menge des in der ersten Etappe gebundenen Jods kann potentiometrisch oder durch amperometrische Titration, photometrisch und viskosimetrisch bestimmt werden. Steigende Temperatur sowie die Zunahme der Jodidionen und der Alkoholkonzentration, ferner die Retrogradation, das Acetylieren und die Hydrolyse vermindern die bindbare Jodmenge. Die Jodaufnahme der Amylospiralen ist kein simultaner Prozeß. Zunächst nehmen das Jod die Moleküle mit dem höchsten Polymerisationsgrad auf und erst dann die Moleküle mit niedrigerem Polymerisationsgrad. Die Reaktionswärme der Komplexbildung macht 17,2 kcal/mol aus, und im Innern der Spiralen bilden sich aus 15 bis 20 J_2 -Molekülen bestehende resonante Einheiten. Enzyme vermögen den Komplex nur an jenen Stellen anzugreifen, an denen das Innere der Spiralen nicht mit Jod gesättigt ist. In Anwesenheit von Jod läßt sich das Amylopektin restlos abbauen.

Literatur

1. LANSKY, S.—KOOI, M.—SCHOCH, T. J.: *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 4060 (1949).
2. LARSSON, B. L.—GILLES, K. A.—JENNES, R.: *Anal. Chem.* **25**, 802 (1953).
3. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Die Stärke* **10**, 248 (1958).
4. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Die Stärke* **9**, 109 (1957).
5. BATES, F. L.—FRENCH, D.—RUNDLE, R. E.: *J. Am. Chem. Soc.* **65**, 142 (1943).
6. WILSON, E. J.—SCHOCH, T. J.—HUDSON, C. S.: *J. Am. Chem. Soc.* **65**, 1380 (1943).
7. KERR, R. W.: *Chemistry and Industry of Starch*, Academic Press, New-York (1950).
8. FOSTER, F. J.: *Dissertation*, Iowa State College, Ames Iowa (1943).
9. GILBERT, G. A.—MARRIOTT, J. V. R.: *Trans Faraday Soc.* **44**, 84 (1948).
10. LAMPITT, L. H.—FULLER, H. C.: *Die Stärke*, **7**, 223 (1955).
11. COTON, L.—LAMPITT, L. H.—FULLER, C. H. F.: *J. Sci. Food. Agric.* **6**, 660 (1950).
12. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *M. T. A. Kém. Tud. Oszt. Közl.*, **10**, 437 (1958).
13. BRUNNER, O.—LENTNER, C.: *Monatshefte*, **88**, 1024 (1957).
14. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Die Stärke*, **8**, 123 (1956).
15. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Brauwissenschaft*, **11**, 31 (1958).
16. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Periodica Polytechnica (Chem.)* **2**, 25 (1958).
17. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.—MOLNÁR, I.: *Fette-Seifen*, **61**, 887 (1959).
18. MCCREADY, R. M.—HASSID, W. Z.: *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 1154 (1943).
19. AUGUSTAT, S.: *Ernährungsforschung*, **3**, 564 (1958).
20. KERR, R. W.—SEVERSON, G. M.: *J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 193 (1943).
21. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Die Stärke*, **10**, 49 (1958).
22. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Przemysł Spożywczy*, **11**, 429 (1957).
23. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.—GANTNER, G. S.—MOLNÁR, I.: *B. M. E. Mezőgazdasági Kém. Techn. Tsz. Közl.*, **2**, 31 (1959).
24. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.—GANTNER, G. S.—MOLNÁR, I.: *B. M. E. Mezőgazdasági Kém. Techn. Tsz. Közl.*, **2**, 35 (1959).
25. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.—GANTNER, G. S.: *Periodica Polytechnica (Chem.)* **3**, 95 (1959).
26. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.—GANTNER, G. S.: *Periodica Polytechnica (Chem.)* **3**, 163 (1959).
27. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.—GANTNER, G. S.: *M. T. A. Kém. Tud. Oszt. Közl.*, **11**, 465 (1959).
28. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.—KISS, I.: *B. M. E. Mezőgazdasági Kém. Techn. Tsz. Közl.*, **1**, 35 (1958).
29. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.—LÁSZLÓ, E.—BEKE, G.: *Die Nahrung*, **3**, 617 (1959).
30. DUBE, H. A.: *Dissertation*, Iowa State College, Ames, Iowa (1947).
31. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Zucker u. Süßw.*, **10**, 520 (1957).
32. SWANSON, M. A.: *J. Biol. Chem.*, **172**, 825 (1948).
33. BAILEY, J. M.—WHELAN, W. J.—PEAT, S.: *J. Chem. Soc.*, 3692 (1950).
34. ONO, S.—TSUCHIHASHI, S.—KUGE, T.: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 3601 (1953).
35. FRENCH, D.: *Privatmitteilung*, 1958.
36. CRAMER, F.: *Chem. Ber.*, **84**, 855 (1951).
37. CRAMER, F.—HERBST, W.: *Naturwiss.*, **39**, 256 (1952).
38. FREUDENBERG, K.: *Naturwiss.*, **27**, 850 (1939).
39. GREENWOOD, C. T.: *Advances in Carbohydrate Chemistry*, **11**, 335 (1956).
40. HUGGINS, M. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4123 (1953).
41. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Élelmezési Ipar*, **10**, 98 (1956).
42. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.—LÁSZLÓ, E.: *M. T. A. Kém. Tud. Oszt. Közl.*, **12**, 205 (1959).
43. SMITH, B. W.—ROE, J. H.: *J. Biol. Chem.* **179**, 53 (1949).
44. HOLLÓ, J.—SZEJTLI, J.: *Kolloidnij Zhurnal*, **20**, 229 (1958).
45. HOLLÓ, J.—LÁSZLÓ, E.—SZEJTLI, J.—MÁNDI, A.: *Die Stärke*, **12**, 351 (1960).
46. PASCHALL, E. F.—FOSTER, J. F.: *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 1177 (1953).
47. HOLLÓ, J.—HUSZÁR, J.—SZEJTLI, J.—GANTNER, G. S.—LÁSZLÓ, E.: *Die Nahrung*, **5**, 506 (1961).
48. HUSZÁR, J.—SZEJTLI, J.: *Szeszipar*, 119 (1962).

Dr. J. SZEJTLI, Budapest XI. Gellért tér 4, Ungarn