

Különböző keményítőmeghatározási módszerek metodikai értékelése*

SIMONYI GÉZÁNÉ és KÉKEDY PÁLNÉ
Országos Gabona- és Lisztkísérleti Intézet, Budapest

Érkezett: 1959. június 13.

* A búzának, illetve a belőle őrölt lisztnek túlnyomó része keményítő. Fontos tehát, hogy a keményítő mennyiségi meghatározását a lehető legpontosabban végezzük. Ez nemcsak a gabonakémiában súlyponti feladat, hanem a keményítővel kapcsolatos többi iparágban is (söripar, szeszipar, keményítőipar stb.), amit az is bizonyít, hogy a keményítő meghatározására sok módszert dolgoztak ki, de mindegyiknek aránylag nagy a hibahatára.

A Magyar Szabványügyi Hivatal által kiadott „Élelmiszeripari termékek szabványos vizsgálati módszerei” c. könyv az „Ewers” módszert írja elő, ugyancsak az „Ewers” módszert teszi kötelezővé az MSZ 6369—53. jelű „Lisztvizsgálati módszerek” című szabvány is (1).

Ezért a magunk megnyugtatóására, részben pedig a jövőbeni keményítő-meghatározások pontosságának érdekében rendszeres vizsgálatokat folytatunk arra nézve, hogy a lisztben a keményítőt az irodalomban leírt módszerek közül melyikkel lehet a legpontosabban meghatározni, azaz melyik módszernek a legkisebb a metodikai hibája.

A keményítőt többféle módon lehet meghatározni, így pl. csapadékos eljárással, amperometrikan, polarimetrikan, savas hidrolízissel, enzimes lebontással, bikromátos oxidációs eljárással stb. (2). Ezek közül nem mindegyik alkalmas lisztokban történő keményítő meghatározására.

Igy nem használható a csapadékos módszer, mert kivitelezése nehézkes. A Holló—Szejtli-féle amperometrikan keményítőmeghatározás (3) — bár pontosságban felülmúlja a többi eljárást — az ipar számára jelenleg nem alkalmas, mert erre a meghatározási módszerre még nincs berendezkedve. Mi olyan eljárást kerestünk, mely az ipar bármely laboratóriumában könnyen kivitelezhető.

A polarimetrikan eljárás aránylag egyszerű, mert savas előkészítés után az anyag keményítő %-át egyszerű számítással kapjuk meg.

A savas előkészítés történhet:

a) gyenge savas eljárással;

b) tömény savas eljárással.

Gyenge savval történik az előkészítés az „Ewers” módszernél. (1%-os HCl-val cukrosítjuk el a lisztet forrásban levő vízfürdőben.) (2) A Lintner eljárás tömény savat használ és szobahőmérsékleten conc., illetve 12%-os HCl-val végzi el a hidrolízist (2).

A Baumann—Grossfeld—Ewers (2) eljárás méri a keményítő- és a nem keményítő okozta forgatást oly módon, hogy először teljes forgatóképességet mér („A”), majd ólomkeményítőkomplex alakjában a keményítőt kizárva méri a nem keményítő okozta forgatást („B”) és a két érték különbségéből számítja a keményítőértéket.

A savas hidrolízis a vizsgálandó anyagot egészen cukrokig bontja le. A glukoz meghatározást zavaró, nem keményítőtől származó redukáló anyagokat külön kell mérni. A lisztben levő korpából jelentős mennyiségű

*A Szlovák Tudományos Akadémia 1959. július 1—9-ig, Banska Stiavnicaán a rtott XV kémikus kongresszusán elhangzott előadás. (Szerk.)

pentóz kerül az oldatba, melyet Tollens szerint kell meghatározni. Ez az eljárás tehát bonyolult és hosszadalmas, ezért szériavizsgálatokra nem ajánljuk.

Az enzimes lebontás előfeltétele, hogy a vizsgálandó anyag elcukrosításhoz egészen tiszta, szavatolt minőségű cukrosító készítményt használjunk. Ilyen volt a Merck-féle diasztáz, de ez jelenleg nem szerezhető be.

A bikromátos oxidációs eljárás igen pontos, azonban a keményítőre vizsgálandó anyag gondos előkészítést és a kivitelezés nagy technikai felkészültséget kíván, tehát tömegvizsgálatokra ez sem alkalmas. Az említett eljárások közül mi a polarimetrikus eljárást emeltük ki és vizsgáltuk, hogy az Ewers, Lintner és Grossfeld—Baumann—Ewers-féle polarimetrikus meghatározásokon belül liszteknel melyik adja legmegbízhatóbb értéket.

Az Ewers módszerrel kapcsolatban következő észrevételeink voltak: Ha Gooch tégelyben 5 g lisztet deszt. vízzel megpróbáltunk kimosni, akkor egy olyan sűrű kovásszerű anyagot kaptunk, melyet sem kimosni, sem szűrni nem lehetett. Mi módosítottuk az eljárást úgy, hogy az 5 g lisztet főzőpohárba mértük be, ott vízzel jól felkevertük, ülepdedni hagytuk, dekantáltuk és a dekantált részt redős szűrőpapíron átszűrjük. Ugyanígy mostuk ki alkohollal és éterrel is. A szűrletből megpróbáltunk poláros csoportot kimutatni, de egyszer sem sikerült mérhető polaritást kapnunk; így az igen nehézkes és sok anyagmozgatást igénylő munka feleslegesnek tűnik.

A hidrolízis után a liszt keményítőtartalmát polározással határoztuk meg. Hogy a meghatározásokat minél pontosabban végezhesük, először meghatároztuk a polariméteren történő leolvasás hibáját. Kétféle polariméterrel végeztünk méréseket. Az egyik Haenschl, Berlin S 42. jelű körskálás polariméter, a másik Carl Zeiss, Jena jelű zsebpolariiméter volt. A leolvasás hibáját úgy állapítottuk meg, hogy készítettünk egy X%-os keményítőoldatot oldható keményítőből és ezzel a keményítőoldattal egymás után 15—15 leolvasást végeztünk mindkét polariméteren. Azáltal, hogy azonos keményítőoldattal végeztük a méréseket, elértük azt, hogy a két polarimétert egymáshoz kalibráltuk.

A Haenschl-féle polariméter 200 mm-es, a Zeiss-féle zsebpolariiméter 95,04 mm-es csőhosszúságú. A két polariméteren mért adatok a túldoldali 1. és 2. táblázatban láthatók. Tehát a két polariméter leolvasási hibája ~ azonos.

A liszt nedvességét minden sorozatméréskor újra meghatároztuk. Minden meghatározásnál 10 párhuzamos bemérést végeztünk (10 = n). Négyzetes hibaszámítással a középértéktől való eltérések négyzeteinek összegét osztottuk (n—1)-el, s a kapott értékből gyököt vonva kaptuk meg a sorozatmérés átlagos ± hibáját, melynek háromszorosát vettük, mint az elkövethető legnagyobb hibát.

A skálán leolvasott fokokból (Ewers szerint) a következő képlet alapján számítottuk ki a %-os keményítő értéket:

$$\text{Keményítő \%} = \frac{100 \cdot \alpha \cdot 20}{\alpha D_{20} \cdot l}$$

ahol, D_{20} = 182,7 (182,7 a szabvány által megadott fajlagos forgatóképeség.)

l = csőhossz

α = leolvasott fok

n	Fok	Eltérés a középértéktől	Eltérés négyzete	Eltérések négyzeteinek összege osztva n - 1-gyel
1	7,1	-0,16	0,0256	
2	7,3	+0,04	0,0016	
3	7,3	+0,04	0,0016	
4	7,0	-0,30	0,0900	0,2584 : 14 =
5	7,2	-0,06	0,0036	= 0,01846
6	7,3	+0,04	0,0016	
7	7,3	+0,04	0,0016	
8	7,4	+0,14	0,0196	$\sqrt{0,01846} =$
9	7,3	+0,04	0,0016	= $\pm 0,1359\%$
10	7,2	-0,06	0,0036	
11	7,5	+0,24	0,0576	
12	7,2	-0,06	0,0036	
13	7,4	+0,14	0,0196	
14	7,3	+0,04	0,0016	
15	7,1	-0,16	0,0256	
	<u>108,9</u>		<u>0,2584</u>	

ké = 7,26 ~ 7,3

Tehát a Haenschl-féle polariméteren a leolvasási hiba: +0,14%

Zsebpolariméterrel mért adatok

2. táblázat

n	Fok	Eltérés a középértéktől	Eltérés négyzete	Eltérések négyzeteinek összege osztva n - 1-gyel
1	3,2	+0,31	0,0961	
2	2,8	-0,09	0,0081	
3	2,8	-0,09	0,0081	
4	3,0	+0,11	0,0121	
5	2,8	-0,09	0,0081	0,2495 : 14 =
6	3,1	+0,21	0,0441	= 0,01782
7	2,8	-0,09	0,0081	
8	2,8	-0,09	0,0081	$\sqrt{0,01782} =$
9	3,0	+0,11	0,0121	= $\pm 0,1335\%$
10	2,8	-0,09	0,0081	
11	2,8	-0,09	0,0081	
12	2,9	+0,01	0,0001	
13	3,0	+0,11	0,0121	
14	2,8	-0,09	0,0081	
15	2,8	-0,09	0,0081	
	<u>43,4</u>		<u>0,2495</u>	

ké = 2,89 ~ 3,0

A zsebpolariméter leolvasási hibája $\pm 0,13\%$

Ewers módszerrel végeztünk :

- keményítőmeghatározást lisztben
- keményítőmeghatározást oldható keményítőben
- keményítőmeghatározást búzakeményítőben
- keményítőmeghatározást liszt és keményítő keverékben
- össz-szénhidrát meghatározást lisztben
- össz-szénhidrát meghatározást liszt és keményítő keverékben

összesen 160 analízist.

Az Ewers módszernél a keményítőtartalom meghatározása és az össz-szénhidrát tartalom kimutatása között csak az a különbség, hogy a keményítőtartalom kimutatásakor a nem keményítőtől származó forrást a mosással küszöböljük ki. Tehát az anyag előkészítése polarimetraláshoz a mosástól eltekintve mindkét esetben azonos módon történik.

Vizsgáljuk meg az Ewers módszerrel kapott keményítőértékek átlagos középhibáit :

3. táblázat

Lisztben %	Keményítőben, illetve szénhidrátban %	Kevert mintákban %	Eltérés a mért és számított értékek között %
±1,96	±2,05	±1,36	±1,24
±1,36	±1,68	±2,89	±2,86
	±1,91		
±1,81	±1,58	±1,53	±1,07
±1,98	±2,25	±1,49	±0,40
±2,02	±3,41	±1,46	±1,46

Számítsuk ki, hogy a 160 analízisből számított négyzetes hibáknak mi az átlagos középhibája :

Az átlagos középhiba : ± 1,921%

Vizsgáljuk meg, hogy a számított és mért eredményeknek mi a középhibája : 1,40%.

Tehát az Ewers módszer átlagos középhibája, melyet 160 értékből számoltunk ki, ±1,92%. Ezzel szemben a számított és mért értékek között az eltérés 1,40%. Ha a módszer pontos, akkor ennek a két értéknek egyezni kell, vagy csak igen csekély értékkel szabadna eltérni, mivel itt olyan nagy a mérések száma, hogy igen kedvezően adja meg az átlagos középhibákat. Az átlagos középhiba ±1,92%, ha levonjuk ebből az 1,40%-ot, akkor ±0,52% marad fenn, mely a módszer bizonytalanságából adódik.

Keményítőmeghatározás Lintner szerint :

Erős savval történő hidrolízis Lintnertől származik, a módszer lényege a következő : 2,5 g anyagot keményítő lombikban 10 ml desztillált vízzel felveszünk, majd 15—20 ml conc. HCl-at adunk hozzá, az elegyet 5 perccént felrázzuk és így hagyjuk állni. A hidrolízis befejeztét észlelésünk szerint rózsaszínű színeződés indikálta. 30 perc letelte után 20 C°-on. Ezután 25 ml 1,125 fs (12%-os) HCl-t adunk hozzá, majd a fehérléket 5 ml nátriumfoszfor-wolframáttal csapjuk le, összeszárzunk és 12%-os HCl-al jelíg töltjük. Néhányszori átbuktatás után redős szűrőn átszűrjük és polározzuk.

A keményítő %-ot a következő képlet alapján számítjuk ki :

$$\text{Keményítő \%} = \frac{100 \cdot \alpha}{1 \cdot \alpha D_{20}} \cdot \frac{100}{s},$$

ahol, s = bemért anyag

1 = csőhossz

$\alpha D_{20} = 202$

Analíziseinket az előzőekkel azonos módon végeztük. Vizsgáljuk meg, hogy a Lintner módszerrel kapott értékek egymáshoz képest milyen eredményt adnak. 160 analízisünk eredményeit felírva és az alábbiakban összegezve az átlagos középhibák :

4. táblázat

Lisztben %	Keményítőben %	Kevert mintákban %	Eltérés a mért és számított értékek között
±1,09 ±1,40 ±1,21	* ±1,80 ±0,94	±0,92 ±1,28	±1,23 1,28

A középhibák átlagos középhibája ±1,23%. A mért és számított értékek közötti eltérés középhibája: 1,25%. Tehát a két érték között csupán ±0,02% eltérés van, szemben az Ewers módszer ±0,52%-ával.

Grossfeld—Ewers—Grossfeld—Baumann kombinált módszer : (3)

kapott értékeink a következők:

5. táblázat

n	„A” ^o összes szénhidrogén	„B” ^o nem keményítő	„A—B” ^o keményítő*	Keményítő %	Száraz anyagra	Eltérés a középtértéktől	Eltérés négyzete
1	13,2	0,4	12,8	69,68	79,16	+0,06	0,0036
2	13,6	0,5	13,1	71,32	81,02	+1,92	3,6864
3	13,5	0,4	13,1	71,32	81,02	+1,92	3,6864
4	13,2	0,5	12,7	69,14	78,54	+0,56	0,3136
5	13,6	0,5	13,1	71,32	81,02	+1,92	3,6864
6	13,5	0,6	12,9	70,23	79,78	+0,68	0,4624
7	13,3	0,8	12,5	68,05	77,30	-1,80	3,2400
8	13,1	0,6	12,5	68,05	77,30	-1,80	3,2400
9	13,4	0,9	12,5	68,05	77,30	-1,80	3,2400
10	13,5	0,8	12,7	69,14	78,54	-0,56	0,3136
	Középtérték = 79,10				790,98		21,8725

21,8725 : 9 = 2,4302 $\sqrt{2,4302} = \pm 1,55$ legnagyobb hiba : 4,65%

A módszer átlagos hibája $\pm 1,56\%$, liszt esetében mégsem ajánljuk, mert egyrészt magas (83% feletti) össz-szénhidrát értéket ad az előbbi két módszer értékeivel összehasonlítva, másrészt igen hosszadalmas munka.

Hasonlítsuk össze a három módszert, azaz az Ewers, a Lintner és a Grossfeld—Ewers, Grossfeld—Baumann módszert, a kapott értékek alapján:

Ewers módszernél a polariméteren $0,1^\circ$ megfelel $1,25\%$ keményítőértéknek. Ennél a módszernél az átlagos hibák középhibája $\pm 1,92\%$, ebből a polariméteren történő leolvasás hibája $\pm 0,14\%$, tehát az Ewers módszer metodikai hibája =
 $(\pm 1,92) - (\pm 0,14) = \pm 1,73\%$

Lintner módszernél a polariméteren $0,1^\circ$ megfelel $1,12\%$ keményítőértéknek. Az átlagos hibák középhibája $\pm 1,23\%$; ebből levonva a polariméter hibáit

$$(\pm 1,23) - (\pm 0,14) = \pm 1,09\%$$

Tehát, a Lintner módszer metodikai hibája csak $\pm 1,09\%$

A Grossfeld—Ewers, Grossfeld—Baumann módszernél $0,1^\circ$ megfelel $1,23\%$ keményítőértéknek. Az átlagos hibák középhibája $\pm 1,56\%$; ebből levonva a polariméter hibáját,

$$(\pm 1,56) - (\pm 0,14) = \pm 1,42\%$$

A három módszer közül tehát legpontosabb a Lintner-féle és a legnagyobb metodikai hibával az Ewers-féle módszer dolgozik.

Ha ezekhez az adatokhoz még figyelembe vesszük, hogy a Lintner módszernél a mért és számított értékek közötti eltérés és az átlagos középhibák közötti eltérés $\pm 0,02\%$, akkor a Lintner módszernél kitűnik, hogy a módszernek nincs ingadozása és mindig azonos hibahatárral dolgozik. Ezzel szemben az Ewers módszernél az átlagos középhibák és a számított mért értékek közötti eltérés $\pm 0,52\%$, tehát épp 26-szorosa a Lintner módszerrel kapott eltérésnek.

Megállapíthatjuk azt, hogy a tárgyalt módszerek közül lisztek keményítőtartalmának meghatározására a polarimetriás módszer a legkönnyebben kivitelezhető, mert ez, az anyag savas előkészítése után, a polariméteren leolvasott fokból számítás útján közvetlenül adja a keményítő $\%$ -ot.

A polarimetriás meghatározások közül kísérleti eredményeink alapján a Lintner módszer a legpontosabb és a legegyszerűbb módon, gyorsan kivitelezhető. Sorozatvizsgálatokra rendkívül alkalmas, különösebb egyéni késziséget nem kíván, tehát minden laboratóriumban elvégezhető. A módszer átlagos hibája lisztekben $\pm 1,2\%$, szerintünk ezzel a hibahatárral számolnunk kell és jelenleg nincs olyan keményítőmeghatározási módszer, amely ennél kisebb hibahatáron belül sorozatvizsgálatoknál gyors, pontos és reprodukálható.

Az Ewers módszernél a pillanatnyi körülménytől függ, hogy a dextrinálódás milyen szakaszán ér véget a módszer által előírt 15 perc (melyet a hidrolízisre fordít) és ebből adódik, hogy az Ewers módszer nem mindig adja ugyanazt az értéket.

- (1) MSz Szabványgyűjtemények 6. Élelmiszeripari Termékek szabványos vizsgálati módszerei. Tervgazd. Könyvkiadó. Budapest 1954.
- (2) Bömer A.—Juckenack A.—Tillmans J.: Handbuch der Lebensmittelchemie. Springer Verlag. Berlin, 1933.
- (3) Holló J.—Szejtli J.: Élelm. Ip. X. 98, 1956.

METHODISCHE WERTUNG VON VERSCHIEDENEN
STÄRKEBESTIMMENDEN VERFAHREN

Frau G. Simonyi und Frau P. Kékedy

Die Verfasser überprüften sorgfältig die aus der Fachliteratur bekannten stärkebestimmenden Verfahren und gelangten zum Schlusse, die polarimetrischen Methoden seien die genauesten und zuverlässigsten und innerhalb derselben das Lintner'sche, mittels Hydrolyse mit konzentrierter Säure arbeitende Verfahren. Sie empfehlen deshalb, für die Serienprüfung des Stärkegehaltes von Mehl die Lintner'sche Methode anzuwenden.