

Temperaturabhängigkeit des kernmagnetischen Relaxationsverhaltens von Wasserprotonen in nativer Stärke

H.-J. Hennig und H. Lechert

Institut für Physikalische Chemie der Universität Hamburg

• (Z. Naturforsch. **31 a**, 306–309 [1976]; eingegangen am 13. Februar 1976)

The Temperatur Behaviour of the Transverse Relaxation of the Protons of Water Molecules in Native Starch

Measurements of the temperature behaviour of the transverse relaxation of the protons of water molecules in native potatoe starch show two sorption states and an exchange of protons between these states. From model calculations of Woessner and Zimmermann the occupation of the states and the exchange rate can be evaluated. The portion of more tightly bound water molecules comes out to be about 17%. The energy of activation of the exchange decreases with increasing water content and lies with values in the range of 26 to 31 kJ/mol distinctly below the values observed usually for proton-exchange processes in similar systems.

Wie die Ergebnisse von thermodynamischen und NMR-Messungen zeigen, ist die Wasserbindung an native Kartoffelstärke nicht einheitlich. Bei Wassergehalten oberhalb von etwa 20 Gewichts-% der Gesamtmasse liegen die Wassermolekeln in mindestens zwei Sorptionszuständen vor. Schierbaum et al.^{1,2} haben aus der Analyse von Isothermen und Sorptionswärmen gefolgert, daß oberhalb des genannten Wassergehaltes sogenanntes Kapillarwasser auftritt. Auch Das et al.^{3,4} haben die Form der Isothermen durch Annahme von Wasser in Kapillaren gedeutet und den Porenradius zu 74,5 Å ermittelt. Das Abklingen der Magnetisierungen bei impulspektrometrischen NMR-Messungen⁵ läßt sich in zwei Komponenten zerlegen, die Wassermolekeln unterschiedlicher Beweglichkeit entsprechen. Die Komponente mit der größeren Beweglichkeit könnte dem Kapillarwasser zugeordnet werden, obwohl das Relaxationsverhalten dieses „Wassers“ sehr stark von dem des reinen Wassers abweicht.

Die Anteile der Komponenten an den Magnetisierungen sind proportional zu den Besetzungszahlen in den dazugehörigen Bereichen, wenn der Austausch der Protonen oder Wassermolekeln zwischen diesen Bereichen hinreichend langsam abläuft. Ob und in welchem Umfange ein Austausch vorliegt, läßt sich aus der Temperaturabhängigkeit der Relaxationszeiten und der Anteile der einzelnen Magnetisierungsabfälle erschließen. Nach Arbeiten von Woessner und Zimmermann⁶ sollten sich gegebenenfalls Aufenthaltswahrscheinlichkeiten, Austauschraten und Aktivierungsenergien bestimmen lassen. In der vorliegenden Arbeit wurde durch Analyse der Temperaturabhängigkeit der transversalen Relaxation das

dahingehende Verhalten von an Kartoffelstärke adsorbierten Wassermolekeln studiert.

Experimenteller Teil

Die Untersuchung wurde an nativer Stärke technischer Herkunft von einer Charge vorgenommen, die auch in der vorangegangenen Arbeit⁷ vorgelegen hatte, so daß trotz der dort festgestellten Abhängigkeit von der technischen Aufarbeitung ein unmittelbarer Vergleich möglich ist.

Für die Einstellung des Wassergehaltes von 20% blieb die Stärkeprobe einige Tage im Vakuumexsikkator über gesättigter NH_4Cl -Lösung stehen. Die höheren Wassergehalte 23% und 29% wurden durch direkte Wasserzugabe und mechanisches Vermischen eingestellt. Auch diese Proben blieben zur Gleichgewichtseinstellung einige Tage verschlossen stehen, ehe mit den NMR-Messungen begonnen wurde. Die impulspektrometrischen NMR-Messungen wurden wie in den früheren Arbeiten mit einem Bruker BKR 322 Impuls-Spektrometer durchgeführt. Zur Einstellung und Regelung der Temperatur diente die zugehörige Temperaturregeleinheit B-ST 100/700.

Ergebnisse und Diskussion

In Abb. 1 ist die längere Relaxationszeit T_{2a} in Abhängigkeit von der reziproken Temperatur dargestellt. T_{2a} nimmt zunächst mit der Temperatur zu, erreicht bei 43 °C einen maximalen Wert und nimmt dann wieder ab. Die Abnahme der Relaxationszeit mit zunehmender Temperatur weist nach den Ergebnissen von Woessner und Zimmermann⁶ auf das Vorliegen eines Austausches hin. Dieser Austausch muß mit einem Sorptionszustand b er-



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

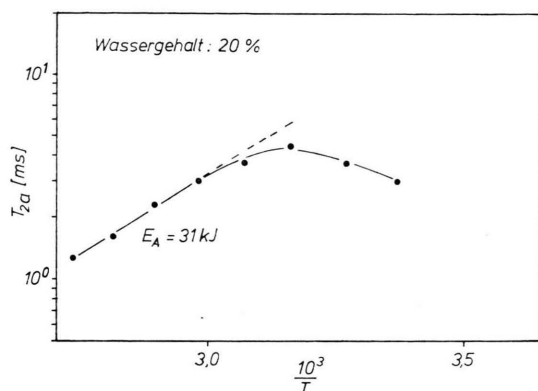


Abb. 1. Abhängigkeit der längeren transversalen Relaxationszeit T_{2a} von der reziproken Temperatur.

folgen, welcher eine kürzere Relaxationszeit T_{2b} besitzt. Man kann diesem Relaxationsbereich die schon früher⁵ beobachtete „kurze“ Komponente des Relaxationsabfalls zuordnen, die keine meßbare Abhängigkeit von der Temperatur aufweist. Ein weiteres Argument für diese Zuordnung ergibt sich aus der Betrachtung der Intensitäten.

Wie aus Abb. 2 hervorgeht, nimmt der Anteil der „längeren“ Komponente an der Gesamtintensität mit der Temperatur zu. Gleichzeitig bleibt die Gesamtintensität konstant und die Zunahme erfolgt auf Kosten des Anteils der kurzen Komponente. Man spricht daher auch von den scheinbaren Aufenthaltswahrscheinlichkeiten P'_{2a} bzw. P'_{2b} , die von den

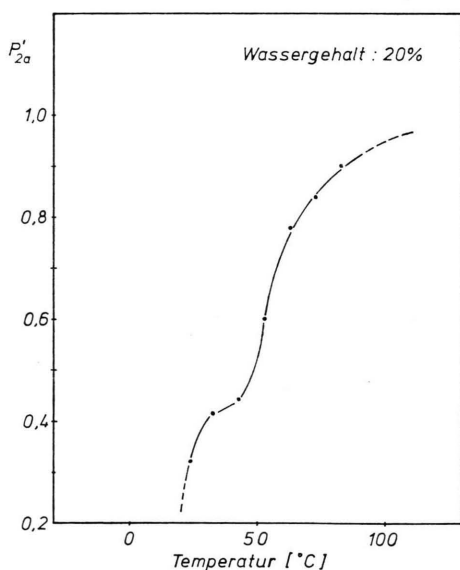


Abb. 2. Die scheinbare Aufenthaltswahrscheinlichkeit P'_{2a} in Abhängigkeit von der Temperatur.

zu den Besetzungszahlen proportionalen Aufenthaltswahrscheinlichkeiten P_{2a} und P_{2b} unterschieden werden müssen. Die Temperaturabhängigkeit der Anteile bedeutet, daß über einen weiten Temperaturbereich entweder nur die scheinbaren Größen gemessen werden oder eine Änderung in den Besetzungszahlen erfolgt.

Oberhalb der Temperatur von etwa 30 °C ähnelt der Verlauf von P'_{2a} sehr stark demjenigen, den Woessner und Zimmermann⁶ unter der Annahme eines Austausches zwischen zwei Sorptionszuständen bei konstanten Aufenthaltswahrscheinlichkeiten errechnet haben. Der steile Abfall von P'_{2a} unterhalb dieser Temperatur zeigt jedoch an, daß in diesem Bereich eine Änderung der Besetzungszahlen erfolgt. Sonst müßte die Kurve nach tieferen Temperaturen hin horizontal auslaufen. Die Existenz des Wendepunktes läßt die Annahme zu, daß hier die Änderung der Besetzungszahlen zum Stehen kommt und der Kurvenverlauf nach höheren Temperaturen hin durch den Austausch bestimmt wird. Hiermit übereinstimmend nimmt ab 43 °C, also knapp oberhalb der Temperatur des Wendepunktes, T_{2a} mit zunehmender Temperatur ab, d. h. die Relaxationszeit ist in diesem Bereich überwiegend durch den Austausch gegeben.

Die Relaxationszeit T_{2a} ist bei Temperaturen oberhalb vom Maximum nicht mit der wahren Relaxationszeit T_{2aw} des Sorptionszustandes a identisch. Allgemein gilt die Beziehung

$$1/T_{2a} = 1/T_{2aw} + C_a.$$

Hierbei ist C_a die Austauschrate des Sorptionszustandes a. $1/C_a$ kann als mittlere Lebensdauer im Zustand a betrachtet werden. Bei Temperaturen oberhalb des Maximums in Abb. 1 ist C_a näherungsweise gleich dem Reziproken von T_{2a} . C_b , die Austauschrate des Sorptionszustandes b, wurde durch Vergleich des gemessenen Verlaufes von P'_{2a} mit dem von Woessner und Zimmermann⁶ berechneten abgeschätzt. P'_{2a} wurde dem Abfall der transversalen Magnetisierung entnommen. Aus Abb. 8 der Arbeit⁶ läßt sich dann $C_b T_{2b}$ entnehmen. Aus dem Produkt $C_b T_{2b}$ ergab sich schließlich mit dem gemessenen Wert für T_{2b} die Austauschrate C_b . In Tab. 1 sind die Werte der einzelnen Größen für verschiedene Temperaturen zusammengestellt. Die letzte Spalte enthält das Verhältnis der Austauschraten, welches gleich dem der Aufenthaltswahrscheinlichkeiten ist und dementsprechend konstant sein sollte. Letzteres gilt annähernd nur in dem engen Temperaturbereich

Tab. 1. Relaxationszeiten, Austauschraten und Aufenthaltswahrscheinlichkeiten bei verschiedenen Temperaturen, a) gemessen, b) korrigiert nach ⁶, Abb. 9 (s. Text).

Temp. °C	T_{2a} ms	C_a s ⁻¹	P'_{2a}	T_{2b} ms	$C_b T_{2b}$	C_b s ⁻¹	$C_a/C_b = P_b/P_a$
43	4,50	220	0,44	1,04	—	—	—
53	3,68	270	0,60	1,01	0,09	85	3,2
63	2,98	340	0,78	1,07	0,29	271	1,3
73	2,27	440	0,84	1,07	0,39	364	1,2
83	1,62	620	0,90	(0,57) ^a 1,14 ^b	0,60	(1052) 526	(0,6) 1,2
93	1,25	800	1,0	—	—	—	—

zwischen 63 und 83 °C, wenn man die bei 83 °C erfolgte Korrektur für T_{2b} berücksichtigt. Diese Korrektur erwies sich als notwendig, da der Abb. 9 der Arbeit ⁶, in der ein Zusammenhang zwischen der der Magnetisierungskurve entnommenen scheinbaren Relaxationszeit T_{2b} und C_b dargestellt wird, zu entnehmen ist, daß bei der vorliegenden Austauschrate von 530 s⁻¹ T_{2b} nicht mehr den wahren Wert darstellt, und das wahre T_{2b} nach der Korrektur etwa den halben Wert hat, wie aus den Daten für 83 °C aus der Tab. 1 hervorgeht. Die Notwendigkeit dieser Korrektur und ihre Wirkung ist ein weiterer Beweis für die Richtigkeit der Auswertung unserer Messungen nach dem Modell von Woessner und Zimmermann ⁶.

Unterhalb von 63 °C wird der Gültigkeitsbereich für $C_a \approx 1/T_{2a}$ überschritten, und der Verlauf von P'_{2a} entspricht nicht mehr dem theoretisch berechneten. Auch die in den Rechnungen enthaltene Voraussetzung $T_{2a} \geq 10 T_{2b}$ ist erst bei den höheren Temperaturen erfüllt.

Die Austauschraten und damit die Aufenthaltswahrscheinlichkeiten sind annähernd gleich. Hiermit ergibt sich eine nachträgliche Bestätigung für die Erfüllung dieser in die berechnete Kurve eingegangenen Voraussetzung.

Aus dem Verhältnis $P_{2b}/P_{2a} = 1,2$ errechnet sich unter Berücksichtigung des Gesamtwassergehaltes von 20% der Gehalt an Wassermolekeln mit der geringeren Beweglichkeit zu 12%. Dieser Wert liegt deutlich unter den Werten, die sich aus thermodynamischen (18–20%)^{1, 2} und NMR-Untersuchungen (17%)⁵ bei Raumtemperatur ergeben haben. Da sich der Austausch erst oberhalb der Raumtemperatur auswirkt, gibt der Wert von 17% direkt den Anteil der Wassermolekeln in dem Sorptionszustand mit der geringeren Beweglichkeit an. Wie schon oben an Hand der Temperaturabhängigkeit des Anteils

P'_{2a} erörtert worden ist, scheint die Besetzungszahl des Sorptionszustandes mit der größeren Beweglichkeit mit der Temperatur zuzunehmen, und spätestens ab etwa 63 °C liegt der Gehalt an weniger beweglichen Wassermolekeln nur noch bei 12%. Die Ergebnisse der vorliegenden NMR-Messungen zeigen lediglich das Vorliegen eines Austausches von Protonen zwischen zwei Sorptionszuständen unterschiedlicher Beweglichkeit an. Sie erlauben keine Aussage über den Mechanismus des Vorganges, welcher entweder in einem Austausch ganzer Wassermolekeln oder nur in einem Protonenaustausch zwischen Wassermolekeln in den beiden Bereichen bestehen kann. Für den Austausch von Protonen zwischen benachbarten Wassermolekeln in Kollagen⁸ und Montmorillonit⁹ ist aus der Temperaturabhängigkeit der Linienbreite bzw. der Austauschrate die Aktivierungsenergie zu 40–54 kJ/Mol bestimmt worden. Bei Gültigkeit der Beziehung $C_a = 1/T_{2a}$ und der Annahme, daß die Temperaturabhängigkeit durch die Beziehung $C_a = C_{a0} e^{-E_A/RT}$ zu beschreiben ist, ergibt sich aus der Steigung der Kurve oberhalb des Maximums in Abb. 1 eine Aktivierungsenergie von 31 ± 2 kJ/Mol. Entsprechend erhält man aus der Temperaturabhängigkeit von C_b aus Tab. 1 etwa 33 kJ/Mol. Die Aktivierungsenergie für den Austausch zwischen den beiden Sorptionszuständen in der Stärke liegt damit deutlich unter den dem Protonenaustausch zwischen benachbarten Wassermolekeln zugeschriebenen Werten, so daß dem Austausch wahrscheinlich ein anderer Mechanismus zugrunde liegt. Entweder wird der Protonenaustausch durch die Anwesenheit anderer Gruppen (OH-Gruppen, Phosphatgruppen) in Richtung einer Verringerung der Aktivierungsenergie beeinflusst, oder die Wassermolekeln erfahren als Ganzes eine Änderung ihres Sorptionszustandes. Da die beiden Sorptionszustände lediglich durch unterschiedliche Beweglichkeiten der Molekeln charakterisiert sind, würde letzteres eine Zuordnung der Aktivierungsenergie zu dem Übergang zwischen den beiden Bewegungsformen beinhalten.

Naheliegender ist eine Zuordnung der beiden Relaxationsbereiche zu den aus thermodynamischen Untersuchungen gefolgerten beiden Sorptionszuständen. Die Komponente mit der längeren Relaxationszeit T_{2a} repräsentiert Wassermolekeln mit größerer Beweglichkeit und wäre dem Kapillarwasser zuzuordnen. In diesem Falle würde ein Austausch von Protonen oder ganzen Wassermolekeln zwischen den

Kapillaren und den übrigen Bereichen des Stärkegerüsts erfolgen.

Die Aktivierungsenergie nimmt wie beim Kollagen⁸ mit zunehmendem Wassergehalt ab (s. Tabelle 2). Aus den Änderungen des Kornvolumens¹⁰

Tab. 2. Aktivierungsenergie des Austausches für verschiedene Wassergehalte.

Wassergehalt	20%	23%	29%
Aktivierungsenergie	31 kJ	28 kJ	26 kJ

und der Röntgen-Beugungsaufnahmen¹¹⁻¹⁴ mit Änderung des Wassergehaltes geht hervor, daß auch die Struktur des Stärkegerüsts vom Wassergehalt abhängt. Hiermit ließe sich die Abhängigkeit der Aktivierungsenergie erklären, wenn diese einem Übergang der Wassermolekeln in Zustände unterschiedlicher Beweglichkeiten zuzuordnen ist.

Weitere Beiträge zur Aufklärung der Zusammenhänge dürften im Gange befindliche Untersuchungen zur Abhängigkeit der NMR-Signale vom pH-

Wert und den die Phosphatgruppen neutralisierenden Ionen⁷ ergeben. Auch Messung der Deuteriumresonanz an mit Deuteriumoxid ausgetauschten Proben erscheinen nützlich. Hierzu bisher durchgeführte Messungen¹⁵ sind leider nur beschränkt auswertbar, da weder die Konstitution der untersuchten Stärke noch der Grad der Übermodulation ausreichend berücksichtigt worden ist. Letzteres läßt keine befriedigende Auswertung der Linienform, insbesondere der Linienbreite, zu, welche der Zeitkonstanten des Magnetisierungsabfalles analog ist. Zudem ist der H-D-Austausch¹⁶ an den OH-Gruppen des Stärkegerüsts nicht berücksichtigt worden.

Der „Arbeitsgemeinschaft Industrieller Forschungsvereinigungen“ und den im „Forschungskreis der Ernährungsindustrie“ zusammengeschlossenen Verbänden danken wir für die Förderung unserer Arbeit durch Sach- und Personalmittel. Herrn Dr. R. Stute vom Institut für Forschung und Entwicklung der Maizena GmbH danken wir für viele Diskussionen.

¹ F. Schierbaum, *Stärke* **12**, 257 [1960].

² F. Schierbaum u. K. Täufel, *Stärke* **14**, 233 [1962].

³ B. Das, R. K. Sethi u. S. L. Chopra, *Israel J. Chem.* **10**, 963 [1972].

⁴ K. S. Rao u. B. Das, *J. Coll. Interf. Sci.* **32**, 24 [1970].

⁵ H. J. Hennig u. H. Lechert, *Stärke* **26**, 232 [1974].

⁶ D. E. Woessner u. J. R. Zimmermann, *J. Phys. Chem.* **67**, 1590 [1963].

⁷ H. J. Hennig, H. Lechert u. B. Krische, *Stärke* **27**, 151 [1975].

⁸ C. Migchelsen u. H. J. C. Berendsen, *J. Chem. Phys.* **59**, 296 [1973].

⁹ D. E. Woessner, *J. Magn. Res.* **16**, 483 [1974].

¹⁰ N. N. Hellmann, T. F. Boesch u. E. H. Melvin, *J. Amer. Chem. Soc.* **74**, 348 [1952].

¹¹ J. R. Katz u. J. C. Derksen, *Z. Phys. Chem. A* **150**, 100 [1930].

¹² J. Blackwell, A. Sarko u. R. H. Marchessault, *J. Mol. Biol.* **42**, 379 [1969].

¹³ H. F. Zobel, in „Methods of Carbohydrate Chemistry“, Vol. IV, Academic Press, New York-London 1964.

¹⁴ K. Kainuma u. D. French, *Biopolymers* **11**, 2241 [1972].

¹⁵ M. J. Tait, S. Ablett u. F. W. Wood, *J. Coll. Interf. Sci.* **41**, 594 [1972].

¹⁶ N. W. Taylor, H. F. Zobel, Milford White u. F. R. Senti, *J. Phys. Chem.* **65**, 1816 [1961].