



Doctoral Thesis

Untersuchung des oralen Stärkeabbaues und der Acidogenität von Stärke

Author(s):

Mörmann-Buchmann, Jeanette E.

Publication Date:

1979

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000158839> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH 6346

Untersuchung des oralen Stärkeabbaues und der Acidogenität von Stärke

ABHANDLUNG

zur Erlangung
des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
JEANETTE E. MÖRMANN-BUCHMANN
dipl. Phil. II Universität Zürich
geboren am 5. November 1951
von Deutschland

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. H. Neukom, Referent
Prof. Dr. H.R. Mühlemann, Korreferent

1979

Dauerbackwaren ist Stärke eine traditionelle Zwischenmahlzeit: Viele der häufig konsumierten Stärkeprodukte werden auf Grund ihrer Klebrigkeit lange in der Mundhöhle retiniert und durch die Wirkung der Speichel- α -Amylase zu niedermolekularen Glucose-Oligomeren, vor allem Maltose und Maltotriose abgebaut. Diese Stärkeabbauprodukte dienen einer unter normalen Bedingungen, d.h. bei Anwesenheit von Saccharose, gewachsenen Plaque als Substrat für die glykolytische Säurebildung. Es kann deshalb angenommen werden, dass Stärke unter den genannten Voraussetzungen ein kariogenes Potential besitzt.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der zeitliche Verlauf des Stärkeabbaues durch α -Amylase sowie die Fermentation von Stärke und deren Abbauprodukte in vitro und in vivo untersucht. Die Analyse des Stärkeabbaues erfolgte mit Hilfe der Dünnschicht-Chromatographie qualitativ und quantitativ mit Hilfe der Gelfiltrations-Chromatographie sowie anhand reduzierender Endgruppenbestimmung. Die Stärkefermentation wurde in vitro mit Hilfe von pH-Messungen und Säuretitrationen sowie mit enzymatischen Lactatbestimmungen und in vivo mit Hilfe der intraoralen pH-Telemetrie verfolgt.

1. Die in vitro Untersuchungen konzentrierten sich auf die α -Amylolyse von vollständig gelöster Weizenstärke, einem dunklen Weizenmehlbrot (Ruchbrot) und einem Weizenstärke-Biskuit. Dabei wurde die Wirkung einer kristallinen Schweinepankreas- α -Amylase mit der Wirkung der menschlichen Speichel- α -Amylase in zellfreier Mundflüssigkeit verglichen. Der zeitliche Verlauf der α -Amylolyse war bei mundhöhlenähnlichen Bedingungen im Bereich von Sekunden und wenigen Minuten

sehr rasch. Als Hauptabbauprodukte der Weizenstärke resultierten Maltose, Maltotriose und Grenzextrine. Die prozentuale Verteilung dieser Glucose-Oligomere im Hydrolysat war je nach Herkunft der α -Amylase verschieden. Die Abbaubarkeit der drei untersuchten Weizenstärke-Substrate ergab sich anhand der Reihenfolge abnehmender Hydrolysegeschwindigkeit wie folgt: Weizenstärkelösung > Ruchbrot > Weizenstärke-Biskuit.

2. Der orale Stärkeabbau wurde bei 4 Telemetrie-Probanden in vivo untersucht; gleichzeitig wurde das pH der Interdentalplaque telemetrisch gemessen. Das in vitro, unter standardisierten Bedingungen für Speichel- α -Amylase ermittelte Abbau-muster bestätigte sich sowohl bei der Stärkehydrolyse in vivo als auch bei den parallel dazu durchgeführten in vitro Versuchen mit der Mundflüssigkeit des jeweiligen Probanden. Bezüglich des zeitlichen Verlaufs der Stärkehydrolyse traten inter- und intraindividuelle Unterschiede auf, wobei eine Abhängigkeit vom α -Amylasegehalt der Mundflüssigkeit und der Speichel-Fliessrate der Probanden bestand. Auf Grund dieser Unterschiede wurde ein Hydrolysepotential (AU x ml MF) der Probanden berechnet. Die Abbaubarkeit der drei Weizenstärkeprodukte in vivo entsprach der in vitro ermittelten Reihenfolge. Der orale α -amylolytische Abbau von Weizenstärke war immer von einem pH-Abfall in der interdentalen Plaque begleitet. Geschwindigkeit, Grösse und Dauer des pH-Abfalls waren sowohl von den oralen Verhältnissen der Probanden wie auch von der Konzentration und den physikalischen Eigenschaften des Substrates abhängig.

3. Die α -Amylase-Aktivität der durch Paraffinkauen (PC) stimulierten Mundflüssigkeit der 4 Telemetrie-Probanden wurde anhand reduzierender Endgruppen bestimmt; sie betrug im Mittel 137 ± 92 AU/ml/min. Die Fliessrate der Mundflüssigkeit bei PC-Stimulation lag im Mittel bei $2,0 \pm 0,6$ ml/min, die der

Ruhemundflüssigkeit bei $0,7 \pm 0,5$ ml/min. Bei 11 Individuen mit hereditärer Fructoseintoleranz (HFI) wurde eine durchschnittliche Amylase-Aktivität der PC-stimulierten Mundflüssigkeit von 535 ± 351 AU/ml/min bestimmt, dies war schwach signifikant ($p < 0,05$) höher als bei der unabhängigen Kontrollgruppe mit 277 ± 72 AU/ml/min.

4. Die Fermentation von Glucose und Stärke in der Mundflüssigkeit wurde in vitro anhand des entstehenden Lactats gemessen. Dabei wurde eine höhere L(+)-Lactat Produktion aus Glucose als aus gelöster LINTNER- und Weizenstärke festgestellt. Diese Unterschiede traten jedoch erst bei längerer Inkubationszeit auf.

Die Untersuchung der Vergärbarkeit von Stärke und Stärkeabbauprodukte durch zwei für die Aetiologie der Karies wichtige Plaquebakterienstämme ergab nur bei Actinomyces viscosus OMZ 105 (Ny 1) eine schwache Säurebildung aus gekochter Stärke. Dieser Stamm vergärte Maltose, Maltotriose und Maltotetraose in gleicher Weise wie Glucose. Streptococcus mutans OMZ 176 vergärte ausser Glucose nur noch Maltose und Maltotriose.

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die in kurzer Zeit ablaufende orale Stärkehydrolyse die Grundlage des acidogenen Potentials von Stärke und Stärkeprodukten ist.

Summary

Starch degradation by α -amylase, its time dependence and the fermentation of starch and its degradation products were investigated in vitro and in vivo. Analysis of starch

digests included identification of oligosaccharides by thin-layer chromatography, quantitative separation by gel filtration chromatography and measurement of reducing end groups. Methods used for the investigation of starch fermentation in vitro were the measurement of pH, acid titration and enzymatic lactate determination and in vivo intra-oral pH-telemetry.

1. The hydrolytic activity of crystalline porcine pancreatic α -amylase was compared to that of human salivary α -amylase in cell-free pooled saliva. In vitro under conditions similar to those in the oral cavity starch (as wheat starch solutions, whole wheat bread and wheat starch biscuit) was hydrolysed rapidly to maltose, maltotriose and limit dextrins. The distribution of the main degradation products was different depending on the source of the α -amylase. Independent of the enzyme source the order of decreasing rate of hydrolysis was wheat starch, whole wheat bread and wheat starch biscuit.

2. The oral amylolysis of starch was studied in 4 volunteers and at the same time the pH of interdental plaque in response to starch degradation was measured telemetrically. The main in vivo degradation products of wheat starch by salivary α -amylase were the same as those obtained in vitro using pooled saliva. Intra- and interindividual differences in hydrolysis rates depended on the salivary amylase-activity as well as on the volunteer's salivary rate of flow. According to these differences a "potential of hydrolysis" (AU x ml pooled saliva/min) was calculated for each volunteer. However the degradability of the three wheat starch products in vivo corresponded to the order obtained in vitro. The oral α -amylolytic degradation of wheat starch was accompanied by a sig-

nificant drop of pH in interdental plaque. The velocity, the magnitude and duration of the pH drop were influenced by the volunteer's salivary amylase-activity and their salivary flow rate as well as by the concentration and physical properties of the substrate. The greatest pH drop was observed in volunteers with high salivary amylase-activity and intermediate salivary flow rate and in volunteers with low salivary amylase-activity and low salivary flow rate.

3. The α -amylase-activity of saliva stimulated by paraffin chewing (PC) was determined by measuring reducing end groups. Saliva from the 4 volunteers participating in the telemetric sessions contained on an average 137 ± 92 AU/ml/min; the mean salivary rate of flow was 2.0 ± 0.6 ml/min with - and 0.7 ± 0.5 ml/min without PC stimulation. The mean amylase-activity in saliva of 11 individuals with hereditary fructose intolerance (HFI) was 535 ± 351 AU/ml/min, significantly higher ($P < 0.005$) than in the control group with 400 ± 96 AU/ml/min.

4. The fermentation of glucose and starch in pooled whole saliva was studied in vitro by means of lactate measurements. L(+)-lactate production from glucose was higher than from soluble LINTNER- and wheat starch. However differences were observed only after prolonged incubation times.

A strain of cariogenic plaque bacteria, A. viscosus OMZ 105 (Ny 1), produced only small amounts of acid from cooked starch. This strain fermented maltose, maltotriose and maltotetraose included in the medium in the same way as glucose. Another cariogenic strain, S. mutans OMZ 176, could ferment glucose, maltose and maltotriose but not cooked starch or maltotetraose.

The present results illustrate that the acidogenic potential of starch and different starch products is based on a rapid oral α -amylolysis.

Résumé

C'est dans le but d'élucider le potentiel acidogène de l'amidon, que nous avons entrepris des recherches sur la dégradation et la fermentation de l'amidon in vitro et in vivo chez l'homme. Les techniques employées pour l'analyse des hydrolysats furent la chromatographie sur couche mince, le tamisage moléculaire et le dosage des groupes réducteurs. La fermentation de l'amidon fut observée à l'aide du pH, par la titration de l'acidité et le dosage du lactate in vitro ainsi que par la télémétrie du pH interproximale de la plaque dentaire chez l'homme.

1. Les substrats utilisés in vitro pour l'examen de l' α -amylolyse en fonction du temps furent en particulier l'amidon de froment cuit, un pain noir à base de farine de blé et un biscuit à base d'amidon de froment. L'action amylolytique d'une préparation de l' α -amylase pancréatique pure fut comparée à l'action de l' α -amylase dans la salive humaine, qui fut séparée de ses constituants cellulaires. Les conditions opératoires mises au point pour l'amylolyse in vitro tendent à reconstituer le milieu buccale. Le maltose, le maltotriose et les dextrans limites furent libérés immédiatement, due à la grande vitesse de l' α -amylolyse. L'évolution quantitative des produits de dégradation formés par l' α -amylase pancréatique fut différente de celle des produits formés par l' α -amylase dans la salive. Indépendamment de l'enzyme, la dégradation des trois substrats, résultant de la vitesse de l'amylolyse abaissée, fut: l'amidon de froment cuit > le pain noir > le biscuit.

2. Chez 4 volontaires, furent étudiées en même temps l'amylolyse buccale et la réponse du pH interproximale de la plaque dentaire suite à la consommation de l'amidon, qui fut enregistrée par la télémetrie. Les produits de dégradation de l'amidon de froment provenant de l'action de l' α -amylase furent les mêmes in vivo qu'in vitro. L'amylolyse buccale, qui montra des différences intra- et interindividuelles, fut influencée par l'activité amylasique ainsi que par la quantité de salive; un "potentiel de l'amylolyse" (AU x ml de la salive totale/min) était calculé pour chaque volontaire. Par ailleurs, la dégradation des trois substrats à partir de l'amidon de froment corresponda à l'ordre obtenue in vitro. La dégradation amylolytique buccale entraîna une réduction significative du pH de la plaque. La réduction du pH (la vitesse, la durée et la mesure) fut influencée par l'activité amylasique, par la quantité de la salive ainsi que par la concentration et les qualités physique du substrat.

3. L'activité amylasique de la salive totale stimulée par mastication de paraffine fut déterminée par le dosage des groupes réducteurs. La salive des 4 volontaires participant à la télémetrie contenait en moyenne 137 ± 92 AU/ml; la quantité de salive totale était $2,0 \pm 0,6$ ml/min avec - et $0,7 \pm 0,5$ ml/min sans stimulation. L'activité amylasique moyenne de la salive de 11 sujets atteints de l'intolérance héréditaire à l'égard du fructose (HFI) fut 535 ± 351 AU/ml, résultat plus haut ($p < 0,05$) que celui du groupe-contrôle (277 ± 72 AU/ml).

4. Dans des expériences in vitro la fermentation du glucose et de l'amidon dans la salive humaine furent examinées à l'aide du dosage du lactate. La production du L(+)-lactate formé du glucose fut plus haute que celle de l'amidon cuit. Mais ces différences ne furent observées qu'après une incubation prolongée.

Les recherches sur la fermentation de l'amidon et ses produits de dégradation au moyen de deux souches de bactéries cariogènes montrèrent que l'Actinomyces viscosus OMZ 105 (Ny 1) produisait peu d'acidité à partir de l'amidon cuit; le maltose, le maltotriose et le maltotetraose furent fermentés également comme le glucose. Le Streptococcus mutans OMZ 176 utilisa le glucose, le maltose et le maltotriose, mais l'amidon cuit et le maltotetraose ne furent pas fermentés par ce dernier.

Les résultats obtenus nous ont donc permis de démontrer que le potentiel acidogène de l'amidon in vivo est du à la grande vitesse de l'amylolyse dans la salive humaine.