

Ruppersberg, Klaus

Stärkeverdauung durch Speichel - was kommt eigentlich dabei heraus? Ein einfacher Maltose-Nachweis am Ende der enzymatischen Hydrolyse von Amylose und die überraschende Anwesenheit von Glucose im Verhältnis 1:15

MNU Journal 69 (2016) 5, S. 325-328



Quellenangabe/ Reference:

Ruppersberg, Klaus: Stärkeverdauung durch Speichel - was kommt eigentlich dabei heraus? Ein einfacher Maltose-Nachweis am Ende der enzymatischen Hydrolyse von Amylose und die überraschende Anwesenheit von Glucose im Verhältnis 1:15 - In: MNU Journal 69 (2016) 5, S. 325-328 - URN: urn:nbn:de:0111-pedocs-150973 - DOI: 10.25656/01:15097

<https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0111-pedocs-150973>

<https://doi.org/10.25656/01:15097>

Nutzungsbedingungen

Gewährt wird ein nicht exklusives, nicht übertragbares, persönliches und beschränktes Recht auf Nutzung dieses Dokuments. Dieses Dokument ist ausschließlich für den persönlichen, nicht-kommerziellen Gebrauch bestimmt. Die Nutzung stellt keine Übertragung des Eigentumsrechts an diesem Dokument dar und gilt vorbehaltlich der folgenden Einschränkungen: Auf sämtlichen Kopien dieses Dokuments müssen alle Urheberrechtshinweise und sonstigen Hinweise auf gesetzlichen Schutz beibehalten werden. Sie dürfen dieses Dokument nicht in irgendeiner Weise abändern, noch dürfen Sie dieses Dokument für öffentliche oder kommerzielle Zwecke vervielfältigen, öffentlich ausstellen, aufführen, vertreiben oder anderweitig nutzen. Mit der Verwendung dieses Dokuments erkennen Sie die Nutzungsbedingungen an.

Terms of use

We grant a non-exclusive, non-transferable, individual and limited right to using this document. This document is solely intended for your personal, non-commercial use. Use of this document does not include any transfer of property rights and it is conditional to the following limitations: All of the copies of this documents must retain all copyright information and other information regarding legal protection. You are not allowed to alter this document in any way, to copy it for public or commercial purposes, to exhibit the document in public, to perform, distribute or otherwise use the document in public.

By using this particular document, you accept the above-stated conditions of use.

Kontakt / Contact:

peDOCS
DIPF | Leibniz-Institut für Bildungsforschung und Bildungsinformation
Informationszentrum (IZ) Bildung
E-Mail: pedocs@dipf.de
Internet: www.pedocs.de

Mitglied der


Leibniz-Gemeinschaft

Stärkeverdauung durch Speichel: Was kommt eigentlich dabei heraus?

Ein einfacher Maltose-Nachweis am Ende der enzymatischen Hydrolyse von Amylose und die überraschende Anwesenheit von Glucose im Verhältnis 1:15

KLAUS RUPPERSBERG

Generationen von Lehrerinnen und Lehrern haben im Biologie- oder Chemieunterricht den Zerfall der Iod-Stärke-Einschlussverbindung mit Hilfe von zugefügtem Speichel vorgeführt oder durchführen lassen. Doch welches Haupt-Reaktionsprodukt entsteht eigentlich bei der enzymatischen Hydrolyse von Stärke mit Speichel-Amylase? Im Internet und sogar in der Fachliteratur findet man Glucose oder Maltose als Antworten – was ist nun richtig? Oder ist sogar beides richtig?

1 Hintergründe

»Gut gekaut ist halb verdaut« – diesen Merkspruch kennen viele Kinder schon seit der Grundschule. Doch was hat es eigentlich mit der Verdauung, die schon im Mund beginnt, auf sich? Die Speicheldrüsen des Mundes produzieren pro Tag einen bis anderthalb Liter Speichel, der das Enzym α -Amylase enthält, welche lautmalerisch auch Ptyalin genannt wird.

Der Zerfall der Stärke-Makromoleküle lässt sich im Schulexperiment (Abb. 1 und 2), durch das Verschwinden der Iod-Stärke-Einschlussverbindung nach Zugabe von Speichel gut sichtbar nachvollziehen (BLUME 2004 und 2012).

Die entstandene Produktlösung kommt weiter unten noch einmal zum Einsatz.

In einem Parallelversuch (außerhalb der Experimentierräume!) bekommen die Schülerinnen und Schüler ein Stück von einem frischen Brötchen (Wecken, Schrippe) und die Aufgabe, das Gekaute nicht sofort herunterzuschlucken, sondern solange auf der Zunge zu bewahren, bis es süß schmeckt. Es stellt einen zusätzlichen Anreiz dar, dies mit mehreren Probanden durchzuführen und dabei die Zeit zu stoppen, bis ein anfänglicher süßer Geschmack wahrgenommen werden kann. Die Geschwin-



Abb. 1. Stärkelösung ($w = 2\%$), links unten ohne Zusätze, auf der Heizplatte bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit einem Tropfen Iodlösung ($c = 0,05\text{ mol/L}$) und ca. 1 mL Speichel

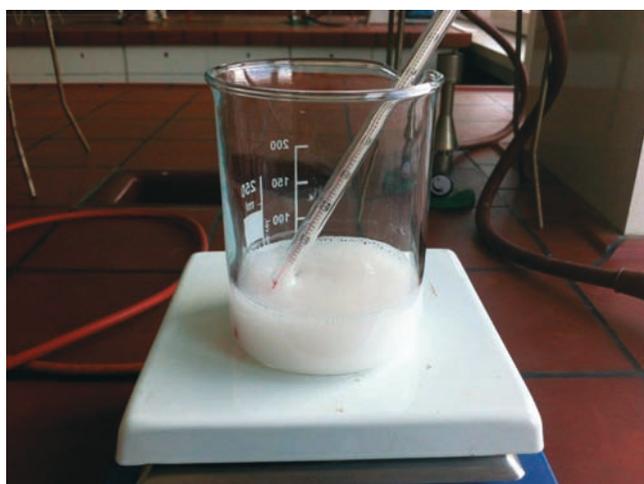


Abb. 2. Produktlösung aus Abb. 1 nach einer Stunde Einwirkzeit

digkeit verschiedener Speichelamylasen und die Wahrnehmung des süßen Geschmacks können genetisch bedingt unterschiedlich sein.

Nun aber noch einmal die Frage: Ist der süße Geschmack durch Glucose oder durch Maltose bedingt?

Die Recherche in älterer Fachliteratur, wie sie in mancher Fachbibliothek noch zu finden sein dürfte, erbringt dürftige und bestenfalls halbrichtige Ergebnisse: »Wie wir heute wissen, spalten α -Amylasen, die pflanzlich im Malz, im tierischen Organismus in Speichel und Pankreas vorkommen, Stärkemoleküle in Oligosaccharide mit jeweils 6 bis 7 Glucose-Einheiten. (...) Erst bei längerer Einwirkung entsteht Maltose (...)« (BALTES 1983, 101–102). Diese Quelle wirbelt verschiedene Amylasen durcheinander und lässt die Frage offen, was mit den ungeradzahigen Oligosacchariden passiert: Bleiben Trisaccharide (Maltotriose) übrig, oder ist es möglich, dass Maltotriose am Ende in je ein Molekül Maltose und Glucose aufgespalten wird?

In einem anderen Fachbuch heißt es: »Die Amylosefraktion wird von der α -Amylase zunächst vorwiegend in Hexasaccharide zerlegt. Das Enzym schlitzt die Amylosespirale, in der jede

Windung aus sechs Glucoseeinheiten besteht, seitlich auf. Die Hexasaccharide werden weiter in zwei Trisaccharide und diese weiter in je ein Molekül Maltose und Glucose gespalten.« (DE GROOT-BÖHLHOFF, FARHADE, KRANEFELD, LACHENMANN 1994, 189–190). Glaubt man dieser Quelle, dann müssten Maltose und Glucose also im Verhältnis 1:1 entstehen.

In »Naturstoffe« (NUHN 1997, 210) findet man beiläufig (und völlig korrekt) am oberen Rand einer Tabelle: » α -Amylase: Endo-Hydrolase, spaltet stärkeähnliche Polysaccharide zu Maltose und D-Glucose«.

Ausführlicher und sehr exakt wird es in »Biochemie systematisch« (HOFMANN 2006, 819–820): »Die α -Amylase des Speichels (...) spaltet α -1,4-glycosidische Bindungen im Innern der Nahrungspolysaccharide Stärke und Glycogen hydrolytisch auf (...) und liefert zunächst Dextrine als Zwischenprodukte der Polysaccharidspaltung, dann Maltose und Glucose. Letztere wird durch die Spaltung von Maltotriose gebildet, die durch die α -Amylasewirkung entsteht. Da die α -Amylase die α -1,6-glycosidischen Bindungen an den Verzweigungsstellen des Glycogens und des Amylopektins nicht hydrolysiert, setzt sie auch Isomaltose frei.«

Das sehr moderne, detaillierte und hübsch illustrierte Schulbuch »Markl Biologie 2« (MARKL 2015, 133) führt aus: »Die Amylase ist darauf spezialisiert, lange Stärkekettens so zu zerschneiden, bis nur noch Stücke aus zwei Traubenzuckermolekülen übrig sind. Diesen besonderen Zweifachzucker kennst du vielleicht sogar: er heißt Malzzucker. Der süße Geschmack im Mund beim langen Kauen von Weißbrot kommt also nicht vom Traubenzucker (...), sondern vom Malzzucker. (...) Die Amylase kann den Malzzucker nicht weiter zerlegen.« Wenn das stimmen würde, dürfte in der Produktlösung keine Glucose nachweisbar sein.

Wikipedia beschreibt den Sacherhalt unter dem Suchwort »Speichelamylase« auf andere Weise sehr genau, lässt aber die entscheidende Frage unbeantwortet: Die α -Amylase aus dem menschlichen Speichel besteht aus drei Isoformen. »Die für die Codierung der Isoformen zuständigen Gene haben die Namen *AMY1A*, *AMY1B* und *AMY1C*. Sie unterscheiden sich nur geringfügig voneinander. Nach neuesten Untersuchungen haben sich die Isoformen durch Kopie gebildet, und das erst vor kurzem. Es ist das erste Beispiel für genetische Anpassung an veränderte Lebens- und Ernährungsgewohnheiten beim Menschen.« Nach Wikipedia werden die Polysaccharide des Mehls an den 1,4-Verknüpfungen in kleinere Zucker aufgespalten. Dabei entstehen zunächst Oligosaccharide, bis zum Schluss Maltose, Maltotriose und 1,6-verknüpfte Reststücke übrigbleiben. Auch nach dieser Schilderung müsste der Nachweis von Glucose in der Produktlösung (vgl. Abb. 2) ausgeschlossen sein, was aber unzutreffend ist (s. u.).

Auf manchen Internetseiten zum Stärkeabbau durch Speichel sind leider Angaben zu finden, die die Maltose-Glucose-Problematik völlig unreflektiert lassen: So gibt es im Skript zum OC-Praktikum für Lehramtsstudierende der Universität Marburg eine Grafik zur Amylosespaltung, die zeichnerisch die Bildung von Maltose und Glucose hervorragend erörtert, jedoch im Text wird keine Stellung dazu bezogen (HERGT 2010, 5). Auf dem Bildungsserver Baden-Württemberg wird Glucose als vermeintlich einziges Endprodukt pauschal durch die Fehling-Probe nachge-

wiesen, was bei Anwesenheit von anderen reduzierenden Zuckern schlichtweg falsch und unsinnig ist. Die Fehling-Probe ist sogar so ungenau, dass sie nicht nur sämtliche Aldosen anzeigt, sondern sogar Ketosen: Durch die Lobry-de-Bruyn-van-Ekenstein-Umlagerung (erstmalig beschrieben im Jahre 1895!) entsteht aus Fructose über ein intermediäres Endiol im stark alkalischen Bereich Glucose! Zudem führen Siedeverzüge bei der Durchführung der Fehling-Probe mit einem Gasbrenner zu vermeidbaren Risiken, sodass ihre Durchführung im Schulunterricht aus mindestens zwei Gründen von zweifelhaftem Nutzen ist. Die Benedict-Probe ist zwar durch die Verwendung von Natriumcarbonat anstelle von Natriumhydroxid nicht so stark alkalisch und führt somit nicht so schnell zu Umlagerungen, im vorliegenden Fall ist sie aber ebenfalls ungeeignet, da auch sie Glucose und Maltose nicht unterscheidet. Auch die Tollens-Probe ist ungeeignet, da sie wie die beiden anderen Proben eigentlich nur ein Aldehyd-Nachweis ist. Außerdem kann es bei unsachgemäßer Entsorgung zur Bildung von explosivem Silberazid kommen.

2 Ein einfacher und gefahrloser Nachweis zur Differenzierung von Glucose und Maltose

Es gibt einen Test, der spezifisch für Maltose und Lactose ist, wobei Lactose hier in diesem Zusammenhang ausgeschlossen werden kann, da sie nur in Milchprodukten vorkommt. Es handelt sich um eine Abwandlung der Wöhlk-Probe (WÖHLK 1904) durch MALFATTI (MALFATTI 1905), die deshalb korrekterweise Wöhlk-Malfatti-Probe genannt werden sollte.



Materialien:

12 Reagenzgläser, 1 wasserfester Stift zum Beschriften der Reagenzgläser, 1 Reagenzglasständer, 1 500 mL-Becherglas gefüllt mit 200 mL Wasser, 1 Heizplatte, 1 Thermometer (um 60 °C zu messen), 2 mL Produktlösung (s. o.), 2 mL Stärkelösung ($w = 2\%$), 40 mg Maltose, 40 mg Glucose, 40 mg Fructose, demin. Wasser, 1 Messpipette (um 2 mL abzumessen), Ammoniaklösung ($w = 10\%$), Kalilauge ($c = 1 \text{ mol/L}$).

Entsorgung:

Die vereinten Lösungen können mit verdünnter Salzsäure neutralisiert und anschließend kanalisiert werden.

Vorgehen:

Zur Erstellung einer Farbskala werden acht Reagenzgläser mit Maltose befüllt (Feinwaage!), und zwar in folgenden Milligramm-Mengen: 80, 40, 32, 24, 16, 8, 4, 2. Alle acht Reagenzgläser werden mit 2 mL demin. Wasser aufgefüllt und bekommen dann noch 2 mL Ammoniaklösung ($w = 10\%$) und 3 Tropfen Kalilauge ($c = 1 \text{ mol/L}$).

[Zum Nachrechnen: 80 mg Maltose befinden sich dann in insgesamt 4 mL Lösung, das entspricht einer Konzentration von $w = 2\%$. Die Farbskala kann je nach Präferenz des Experimentators auch nach anderen Berechnungen, z. B. mit dem Verdünnen einer Stammlösung hergestellt werden.]

Ebenso werden 40 mg Fructose und 40 mg Glucose angesetzt. 2 mL der Produktlösung (s. o.) werden in einem Reagenzglas (Pr.) mit 2 mL Ammoniaklösung ($w = 10\%$) und 3 Tropfen Kalilauge ($c = 1 \text{ mol/L}$) versetzt. Ebenso werden 2 mL Stärkelösung ($w = 2\%$) angesetzt.

Die insgesamt 12 Reagenzgläser werden mit einem wasserfesten Stift beschriftet und ins $60\text{ }^\circ\text{C}$ warme Wasserbad gesetzt. Nach 15 Minuten und guter Farbentwicklung, spätestens nach 30 Minuten, werden die Reagenzgläser aus dem Wasserbad entnommen und im Reagenzglasständer miteinander verglichen (Abb. 3).



Abb. 3. Reagenzgläser nach Wöhlk-Malfatti-Probe: Zahlen sind Konzentrationsangaben in Prozent der Maltose-Referenzlösungen; St = Stärkelösung, Pr = Produktlösung; sowie Glucose und Fructose, jeweils $w = 1\%$

Reagenzglas Pr. zeigt die typische lachsrote Färbung, die ebenfalls in den Reagenzgläsern der Farbskala zu erkennen ist. Damit ist Maltose in der Produktlösung nachgewiesen, und zwar mit einer Konzentration von etwa $1,5\%$. Dies war beim Einsatz von Stärkelösung mit $w = 2,5\%$ durchaus zu erwarten. Reagenzglas St. zeigt, dass die Färbung ohne die Wirkung der Speichelamylase nicht zustande kommt. Die Reagenzgläser Glu und Fru zeigen eine in Nuancen unterschiedliche Gelbfärbung, die bei der Wöhlk-Malfatti-Reaktion typisch für Monosaccharide ist.

3 Prüfung der Produktlösung mit einem Glucose-Teststäbchen

Auch wenn die pauschale Verwendung der Fehling-Probe auf dem Bildungsserver Baden-Württemberg zu kritisieren ist, so ergibt diese Quelle einen sehr wertvollen Hinweis, nämlich den Einsatz eines handelsüblichen Glucose-Teststreifens aus der Apotheke. Die Glucoseoxidase-Peroxidase-Reaktion, kurz GOD, ist sehr spezifisch für Glucose (MEHNERT 2003, 87) und erlaubt über das Farbschema der Umverpackung einen halbquantitativen Nachweis von Glucose. Das Ergebnis (Abb. 4) ist verblüffend: Das obere Testfeld auf dem Stäbchen färbt sich zaghaft, aber dennoch eindeutig zartgrün! Das bedeutet, dass die Produktlösung

etwa $w = 0,1\%$ Glucose enthält. Das ist zwar im Verhältnis zu den geschätzten $1,5\%$ Maltose deutlich geringer; Maltose und Glucose entstehen also im Verhältnis $15:1$. Dieses Zahlenverhältnis wurde durch eine gaschromatografische Analyse in einem professionellen lebensmittelchemischen Labor verifiziert.

4 Fazit

Die enzymatische Hydrolyse von Stärke durch Speichel-Amylase bekommt mit der Wöhlk-Malfatti-Probe auf Maltose und dem GOD-Test auf Glucose einen größeren Sinn, da der bislang unterbliebene Nachweis der Endprodukte gelingt. Durch die beiden halbquantitativen Nachweisreaktionen, die mit relativ einfachen Mitteln leicht durchführbar sind, bekommt das gesamte Experiment einen runden Abschluss. Die in Schul- und Fachbüchern vorzufindende Darstellung der Stärkehydrolyse durch Speichelamylase muss wie folgt verbessert werden:

Amylose \rightarrow Oligosaccharide \rightarrow Maltose als Endprodukt sowie Maltotriose als Zwischenprodukt aus der Spaltung ungeradzahligter Oligosaccharide

Maltotriose \rightarrow Maltose und D-Glucose als Endprodukte

Bei Amylopektin ergeben sich zusätzliche Nebenprodukte wie Isomaltose und Grenzdektrine, da die α -1,6-glycosidischen Verzweigungsstellen durch Speichelamylase nicht gespalten werden können.

Literatur

BALTES, W. (1983), *Lebensmittelchemie*, Berlin: Springer.

BLUME, R. (2004). Spucke baut Stärke ab. <http://www.chemieunterricht.de/dc2/grunds/versuche/gs-v-104.htm> (24.05.2016).

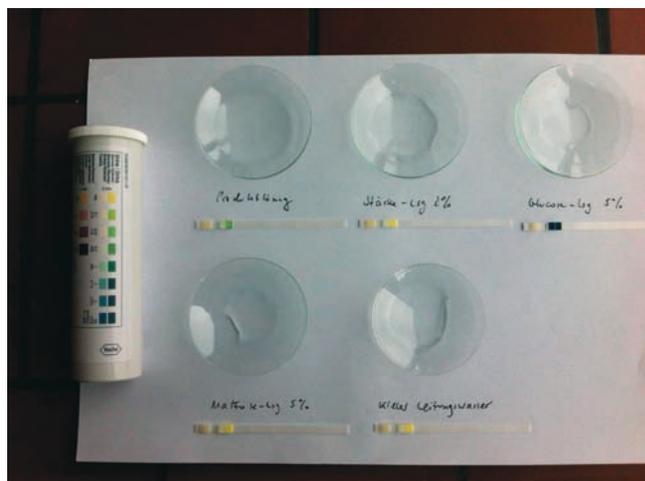


Abb. 4. Handelsübliche Teststreifen mit Glucoseoxidase-Peroxidase (GOD) weisen spezifisch und halbquantitativ Glucose nach.

BLUME, R. (2012). Enzymatische Spaltung von Kartoffelstärke. <http://www.chemieunterricht.de/dc2/haus/v062.htm> (24.05.2016).

DE GROOT-BÖHLHOFF, H., FARHADE, J., KRANEFELD, B. & LACHENMANN, U. (1994). *Ernährungswissenschaft*. Haan-Gruiten: Europa Lehrmittel.

HERGT, J. (2010). Entfärbung von Iod-Stärke-Lösung. http://www.chids.de/dachs/praktikumsprotokolle/PP0397Gruppe_9_Entfaerbung_von_Iod_Staerke_Loesung_Johannes_Hergt_WiSe_10_11.pdf (24.05.2016).

HOFMANN, E. (2006), *Biochemie systematisch*, Bremen: UNI-MED.

Landesbildungsserver Baden-Württemberg. http://www.schule-bw.de/unterricht/faecher/biologie/material/mensch/verdauung/staerkeverdauung_loesungshinweise.html (24.05.2016).

MALFATTI, H. (1905), Über den Nachweis von Milchzucker im Harne, *Centralblatt für die Krankheiten der Harn- und Sexualorgane*, 68–71, Leipzig: Thieme, siehe auch: <https://archive.org/details/centralblattfrd03unkngoog> (24.05.2016).

MARKL, J., GAUSS, A. (Hrsg.) (2015), *Markt Biologie 2*, Stuttgart: Klett, 133.

MEHNERT, H. (2003), *Diabetologie in Klinik und Praxis*, Stuttgart: Thieme.

NUHN, P. (1997), *Naturstoffchemie*, Stuttgart: Hirzel, 210.

Wikipedia. <https://de.wikipedia.org/wiki/Speichel-Amylase> (24.05.2016).

WÖHLK, A. (1904), Über eine neue Reaktion auf Milchzucker (und Maltose), *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 43(11), 670–679.

KLAUS RUPPERSBERG, ruppersberg@ipn.uni-kiel.de ist abgeordnete Lehrkraft am Leibniz-Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften und Mathematik an der Universität Kiel, Abt. Chemiedidaktik (Prof. Dr. ILKA PARCHMANN), Olshausenstr. 62, 24118 Kiel. ■□