

Technischer Fortschritt

**Die Verwendung von mittlerem Infrarot als neue
Methode zur Bestimmung der Verweildauer von
Speichelersatzmitteln auf dreidimensionalen
Zahnfleischmodellen**

Karin Engelhart*, Alice Popescu und Jürgen Bernhardt

Technischer Fortschritt

Die Verwendung von mittlerem Infrarot als neue Methode zur Bestimmung der Verweildauer von Speichelersatzmitteln auf dreidimensionalen Zahnfleischmodellen

Karin Engelhart*, Alice Popescu und Jürgen Bernhardt

Abstract

Hintergrund:

Bei vielen Menschen kommt es aufgrund einer Strahlentherapie von Krebs im Kopf- und Halsbereich, Krankheiten wie dem Sjögren-Syndrom oder als eine Nebenwirkung von verschriebenen Medikamenten zu Mundtrockenheit (Xerostomie). Zur Behandlung werden häufig Speichelersatzmittel wie Gele oder Sprays eingesetzt. Die Wirksamkeit dieser Mundpflegeprodukte wird regelmäßig mit validierten oder auch nicht validierten Fragebögen analysiert. Um den Adhäsionseffekt im Zeitverlauf objektiver zu bestimmen, wurde eine neue und empfindliche Methode erarbeitet. Mit der folgenden Studie sollte die Verweildauer verschiedener oraler Pflegeprodukte *in vitro* bestimmt werden.

Methode:

Auf zwei verschiedene Arten von Oberflächen wurden Mundpflegeprodukte aufgetragen und anschließend nach einem definierten Protokoll mit einer künstlichen Speichelsalzlösung abgespült. Zunächst wurden Mundpflegegels oder Mundpflegesprays auf eine 2,25 cm² große Polystyroloberfläche aufgebracht und danach auf dreidimensionale Zahnfleischmodelle auf Zellbasis. Die Oberflächen wurden zehnmal mit künstlicher Speichelsalzlösung abgespült. Zum Nachweis von Bestandteilen der Mundpflegeprodukte wurden die dabei erhaltenen Spüllösungen mittels Spektroskopie im mittleren Infrarot untersucht.

Ergebnisse:

Alle bewerteten Mundpflegegels oder Mundpflegesprays und ihre Komponenten wurden mit sehr hoher Empfindlichkeit nachgewiesen. In der mobilen Phase wurden selbst Spuren der Produkte nachgewiesen und ermöglichten so die Unterscheidung der Verweilzeiten der verschiedenen Produkte. Im Allgemeinen war die Verweilzeit auf Polystyrol oder Zahnfleischmodellen für Mundpflegegels länger als für Mundpflegesprays. Durch die Verwendung von Zahnfleischmodellen ließen sich die verschiedenen Produkte besser voneinander unterscheiden.

Schlussfolgerungen:

Die Spektroskopie im mittleren Infrarot erwies sich als empfindliche Methode zum Nachweis von Speichelersatzmitteln. Mit ihr lassen sich Unterschiede zwischen Einzelkomponenten und verschiedenen Produkten feststellen. Die beschriebene Methode stellt ein einfaches, zuverlässiges und leicht handhabbares Verfahren dar, um die Verweildauer von Mundpflegeprodukten *in vitro* zu beurteilen, und ist somit ein nützliches Instrument, um optimierte Speichelersatzprodukte zu entwickeln.

Ethik:

Es handelt sich um eine *In-vitro*-Studie. Für diese Studie war keine Ethikerklärung oder Zustimmung erforderlich.

Schlüsselworte:

Neue Methode, Mundpflege, Sjögren-Syndrom, Speichelersatzmittel, Spektroskopie im mittleren Infrarot, trockener Mund, Verweildauer, Xerostomie, Zahnfleisch.

Hintergrund

Die subjektive Empfindung von Mundtrockenheit oder Xerostomie ist ein Symptom, das viele Menschen betrifft. Xerostomie kann infolge einer Strahlentherapie von Krebs im Kopf- und Halsbereich, Krankheiten wie dem Sjögren-Syndrom oder im Sinne von Nebenwirkungen verschriebener Medikamente auftreten. Das Sjögren-Syndrom ist eine der Hauptursachen von Xerostomie. Etwa 3 % aller Amerikaner leiden an Sjögren-Syndrom, darunter 90 % Frauen [1]. Auch wenn Mundkrebs bei Männern häufiger vorkommt als bei Frauen [2, 3], leiden insgesamt mehr Frauen als Männer an trockenem Mund. In neueren WHO-Studien wird angegeben, dass besonders im Fall älterer Menschen die allgemeinen und altersabhängigen Bedingungen der Mundhygiene einen direkten Einfluss auf die Lebensqualität und die Lebensweise haben [4], da ein trockener Mund sich auf Essen und Sprechen auswirkt und das Risiko lokaler Infektionen erhöht.

Die Behandlung von Xerostomie ist nach wie vor schwierig. Die Speichelproduktion wird durch die Stimulation parasympathischer Rezeptoren für stark elektrolythaltigen Speichel wie auch durch die Stimulation sympathischer Rezeptoren für Speichelproteine ausgelöst [5]. Daher werden Parasympathomimetika, etwa Pilocarpinhydrochlorid, für die Behandlung einer Dysfunktion der Speicheldrüsen eingesetzt, doch sind die Belege für den Erfolg der Therapie begrenzt [6]. Außer nichtmedikamentösen Verfahren wie Elektrostimulation oder Akupunktur, deren Wirksamkeit weiterhin kontrovers beurteilt wird [7], besteht die häufigste Behandlung von Mundtrockenheit in der Verwendung von Speichelersatzmitteln wie Mundpflegegelen oder Speichelersatzsprays. Bei jeder Unterbrechung der Behandlung kehrt die Xerostomie jedoch zurück [8]. Eine lange Verweildauer in der Mundhöhle gehört daher zu den Zielen bei der Entwicklung von Mundpflegeprodukten. Die Wirksamkeit solcher Produkte wird gewöhnlich mittels semiquantitativer Nutzerfragebögen bestimmt [9, 10]. Ein objektives Verfahren fehlt noch, und weitere Studien in vitro und in vivo zu den Eigenschaften von Speichelersatzmitteln sind notwendig.

In der vorliegenden Studie wird ein neues Verfahren zur Beurteilung der Verweildauer von Speichelersatzprodukten mittels Spektroskopie im mittleren Infrarot vorgestellt. Infrarotspektroskopie ist ein gut etabliertes Analyseverfahren in der biomedizinischen Forschung [12 - 14]. Im Infrarotabsorptionsspektrum einer Probe werden die Frequenzen aller darin enthaltenen Moleküle erfasst. Jede chemische Bindung in einem Molekül schwingt mit einer charakteristischen Frequenz, die von den benachbarten Atomen abhängt. Spektroskopie im mittleren Infrarot wird hauptsächlich für die Analyse von Proteinen und Lipiden eingesetzt [15 - 17]. Die Entwicklung neuer Durchflusszellen mit Pfadlängen von <10 µm und kleine, für die Messung von wässrigen Lösungen optimierte Probevolumina [18] ermöglicht jedoch neue Anwendungen, da es sich um ein schnelles Verfahren handelt, um Moleküle in wässrigen Lösungen in ihrem Grundzustand mit höchster Empfindlichkeit zu untersuchen. Mit dieser Methode lassen sich selbst Spuren von Molekülen nachweisen.

Künstliche Speichelsalzlösung weist ein charakteristisches Absorptionsspektrum auf. Da Speichelersatzprodukte Speichel imitieren, ähnelt das Absorptionsspektrum jenem der Salzlösung. Da das applizierte Speichelersatzmittel zusätzliche Pflegebestandteile enthält, sollten deren Spektren von jenem der Speichelsalzlösung durch spezifische Zusatzpeaks klar unterscheidbar sein.

Ziel unserer In-vitro-Studie war die Entwicklung eines Tests zur objektiven Messung der Verweildauer von Mundpflegeprodukten. Die geprüften Produkte wurden sowohl auf synthetische Oberflächen als auch auf Zahnfleischmodelle auf Zellbasis aufgetragen und dann mit einem definierten Spülverfahren wieder entfernt. Die Spüllösungen wurden mittels Spektroskopie im mittleren Infrarot auf Spuren der Produkte untersucht. Dieses Verfahren simuliert die Auswaschung der Pflegeprodukte im Mund durch den natürlichen Speichelfluss. Unterschiede in der Verweildauer verschiedener Arten von Speichelersatzmitteln (Gels und Sprays) wurden auf künstlichen und zellbasierten Oberflächen untersucht.

Methoden

Material

Chemikalien und Zelllinien

Natriumbicarbonat, Natriumchlorid und Kaliumchlorid wurden von der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) bezogen. Alle Mundpflegeprodukte (aldiated Gel, aldiamed Spray (beide Certmedica), Biotène Oral Balance (GSK), BioXtra Gel (GUM), Glandosan (CellPharma), Saliva Natura (Parnell Pharmaceuticals)) wurden in einer lokalen Apotheke gekauft. Die Polystyrol-Multiwell-Platten stammten von Greiner BioOne (Frickenhausen, Deutschland).

Künstliche Speichelsalzlösung bestand aus 4,2 g/l Natriumbicarbonat, 0,5 g/l Natriumchlorid und 0,2 g/l Kaliumchlorid, gelöst in bidestilliertem Wasser/aqua bidest. Der pH wurde auf 7,3 eingestellt.

Ein dreidimensionales Modell des menschlichen Zahnfleisches (Epi-Gin) und Erhaltungsmedium stammten von MatTek (Ashland MA, USA).

Methode

Verweildauerprüfung auf Oberflächen aus Polystyrol

Auf Platten mit 6 Vertiefungen wurden von jedem Mundpflegeprodukt je 100 µl auf eine markierte Fläche von 1,5 cm x 1,5 cm aufgetragen und zum Trocknen 10 min. an der Luft stehen gelassen. Durch leichtes Schütteln auf einem Orbitalschüttler wurde das Produkt anschließend mit 1500 µl künstlicher Speichelsalzlösung abgespült. Zu Analysezwecken wurden Proben der Waschlösung genommen. Das Waschen wurde zehnmal wiederholt, wobei die Waschlösung jedes Mal gesondert gesammelt wurde. Alle Waschlösungen wurden sofort mittels Spektroskopie im mittleren Infrarot analysiert. Jede Lösung wurde dreimal analysiert.

Verweildauerprüfung auf organotypischem Modell

Von jedem Mundpflegeprodukt wurden 25 µl auf dreidimensionale Modelle von menschlichem Zahnfleisch aufgebracht (Epi-Gin; MatTek, Ashland MA,

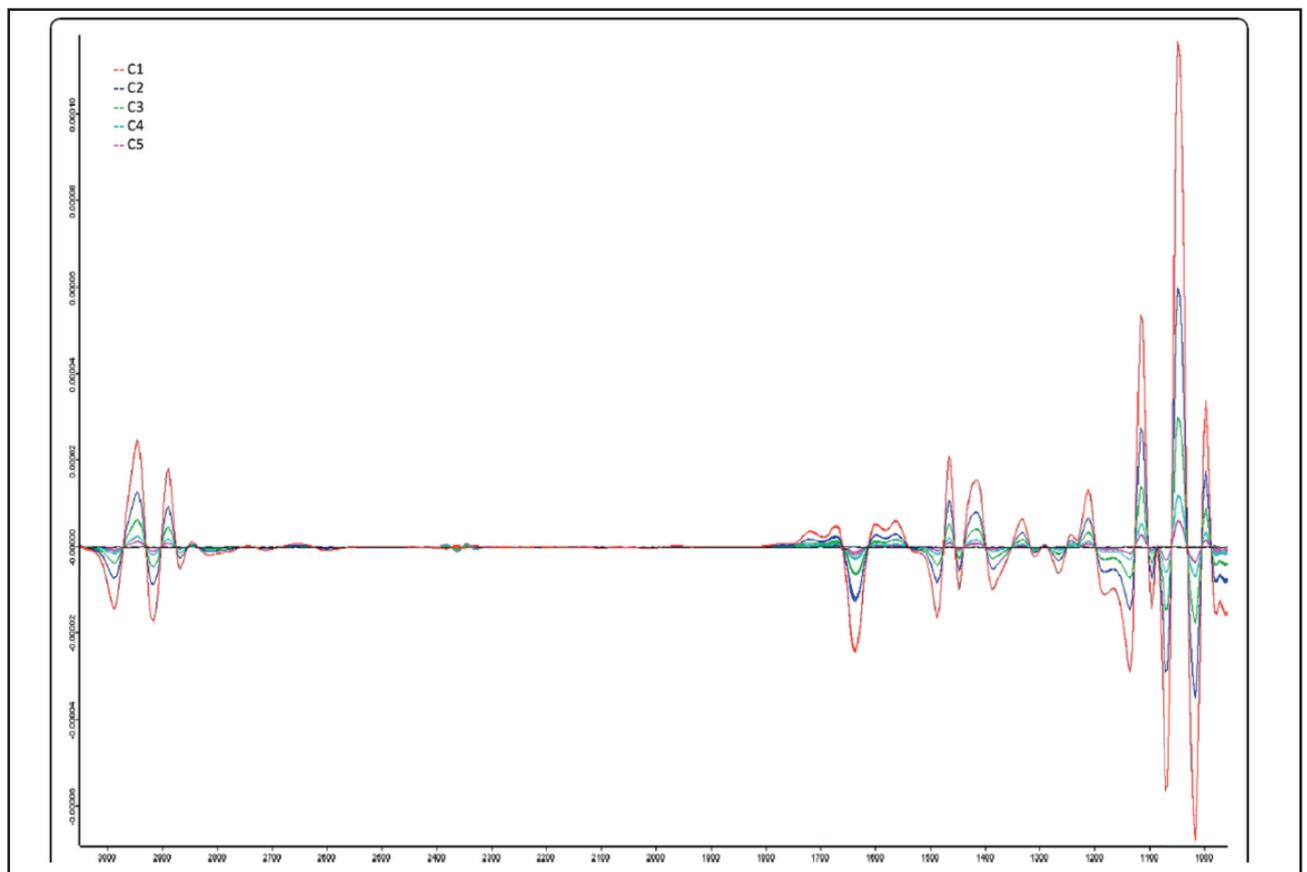


Abb. 1 Empfindlichkeit des Analyseverfahrens. Absorptionsspektrum von aldiamed-Gel in fünf Verdünnungen (C1 = 1:25; C2 = 1:50; C3 = 1:100; C4 = 1:250; C5 = 1:500)

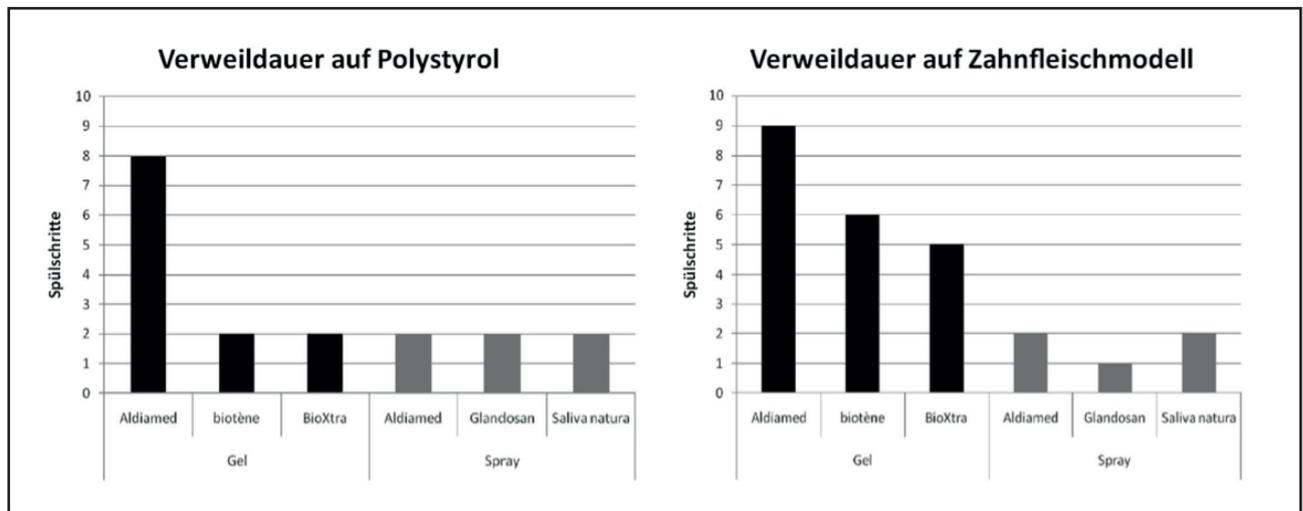


Abb. 2 Verweildauer der verschiedenen Speichlersatzmittel auf Polystyrol und Zahnfleischmodell auf Zellbasis (n = 3, Mittelwert ± SD)

USA) und zum Trocknen 10 min. an der Luft stehen gelassen. Das Produkt wurde mit 400 µl künstlicher Speichelsalzlösung abgespült. Zu Analysezwecken wurden Proben der Waschlösung genommen. Das Waschen wurde zehnmal wiederholt, wobei die Waschlösung jedes Mal gesondert gesammelt wurde. Alle Waschlösungen wurden sofort mittels Spektroskopie im mittleren Infrarot analysiert. Jede Lösung wurde dreimal analysiert.

Analyseverfahren

Die Spüllösungen wurden sofort mit einem AquaSpec™ MIRA-LAB LHS-500analyser analysiert. Die AquaSpec™-Spektroskopie basiert auf Spektroskopie im mittleren Infrarotbereich in einem Spektralbereich von 3001 – 951 cm⁻¹ [18]. Absorptionsspektren und Hauptkomponentenanalyse waren Grundlage der Auswertung.

Ergebnisse und Diskussion

Ziel dieses Projekts war die Beurteilung der maximalen Adhäsion, ausgedrückt als mittlere Verweildauer, des betreffenden Mundpflegeprodukts auf der Oberfläche. Für die erste proof-of-principle-Untersuchung des Analyseverfahrens wurde eine Oberfläche aus Polystyrol eingesetzt. Um den Gegebenheiten in vivo so nahe wie möglich zu kommen, wurden die Mundpflegeprodukte danach auf die Zelloberfläche von dreidimensionalen Zahnfleischmodellen aufgetragen.

Bei der Spektroskopie im mittleren Infrarotbereich handelt es sich um ein sehr empfindliches Analyseverfahren zum Nachweis der Bestandteile wässriger Lösungen [18 – 21]. Jedes der untersuchten Mundpflegeprodukte zeigte ein charakteristisches Absorptionsspektrum in Abhängigkeit von den in ihm vorhandenen Bestandteilen, aufgrund dessen sich die untersuchten Produkte von der künstlichen Speichelsalzlösung, die als Spüllösung verwendet wurde, unterscheiden ließen. Eine Verdünnungsreihe zeigte, dass sich das Prüfprodukt von der als mobiler Phase verwendeten Speichelsalzlösung selbst in sehr niedrigen Konzentrationen unterscheiden lässt; das Mundpflegegel aldiamed beispielsweise war in einer Verdünnung von 1:500 (s. Abb. 1) bestimmbar.

Experimente zur Verweildauer zeigten, dass das Verfahren in der Lage ist, zwischen der Adhäsion verschiedener Produktarten zu unterscheiden. Die Mundpflegegels haften länger auf den Oberflächen als Mundpflegesprays. Die Versuche zeigten des Weiteren, dass die Zahnfleischmodelle eine bessere Unterscheidung zwischen den einzelnen Produkten erlauben als Polystyrol. Auf der Oberfläche aus Polystyrol war eine Unterscheidung nur bei den Mundpflegegelen möglich, während zwischen den Sprayprodukten keine Unterschiede erkennbar waren (s. Abb. 2). Von allen Mundpflegesprays waren Bestandteile nur in den ersten beiden Spüllösungen nachweisbar. Die Bestandteile von biotène Gel und

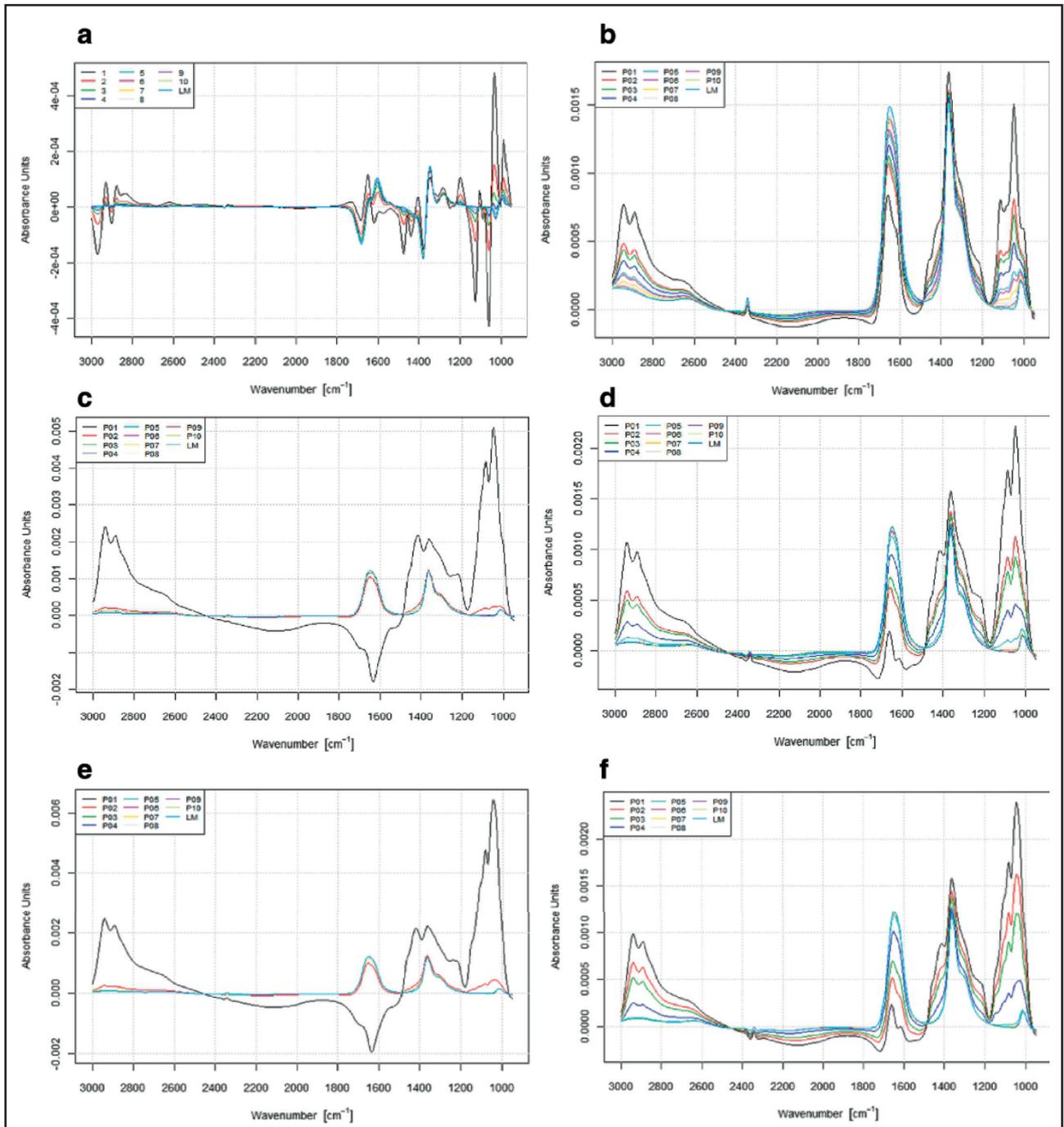


Abb. 3 Absorptionsspektren der Lösungen nach den einzelnen Spüllösungen (P01-P10) nach Applikation von aldiamed Gel auf Polystyrol (a, c, e) und Zahnfleischmodell auf Zellbasis (b, d, f)

BioXtra Gel waren in den ersten beiden Spüllösungen zu finden, während Bestandteile von aldiamed Gel bis zur achten Spüllösung nachweisbar waren. Im Gegensatz dazu war bei Verwendung von Zahnfleischmodellen auf Zellbasis eine Unterscheidung zwischen allen geprüften Produkten möglich. Besonders bei den Mundpflegegelen zeigte sich ein

deutlicher Unterschied in der Verweildauer der Produkte. Die Mundpflegegelen biotène gel und BioXtra Gel verschwanden nach dem sechsten bzw. fünften Spülgang und blieben damit länger auf der Zelloberfläche als auf der Polystyroloberfläche. aldiamed Gel war nach dem achten Spülgang nicht mehr nachweisbar, was dem Ergebnis für die Po-

lystyroloberfläche entsprach (s. Abb. 3). Selbst zwischen den Mundpflegesprays war bei Verwendung des Zahnfleischmodells als Oberfläche ein Unterschied nachweisbar. Der geringe Unterschied zwischen den Verweildauern der Produkte war in allen Messwiederholungen ähnlich und somit in hohem Maße reproduzierbar.

Das Ziel der vorliegenden Studie bestand nicht darin, einzelne Komponenten der Mundpflegeprodukte zu identifizieren, sondern Spuren der Produkte in der Spüllösung nachzuweisen. Die Verwendung der PCA-Analyse zusammen mit der AquaSpec™-Technologie erlaubte jedoch die Unterscheidung zwischen verschiedenen Fraktionen (s. Abb. 4). Eine

Hauptkomponente wurde mit Bestandteilen mit einem großen Anteil an OH-Gruppen in Verbindung gebracht, eine zweite Fraktion mit solchen, die reich an COOH-Gruppen sind. Es ließ sich zeigen, dass diese beiden Hauptkomponenten in unterschiedlicher Weise abgespült wurden. Die erste, OH-Gruppen-reiche Fraktion wurde während der ersten fünf Spülgänge kontinuierlich abgespült. Die zweite, COOH-Gruppen-reiche Fraktion war in den ersten vier Spülgängen mehr oder weniger stabil und verschwand in Spülgang sieben.

Die Verwendung der Spektroskopie im mittleren Infrarot scheint eine sehr empfindliche Methode zum Nachweis der Adhäsionseigenschaften von

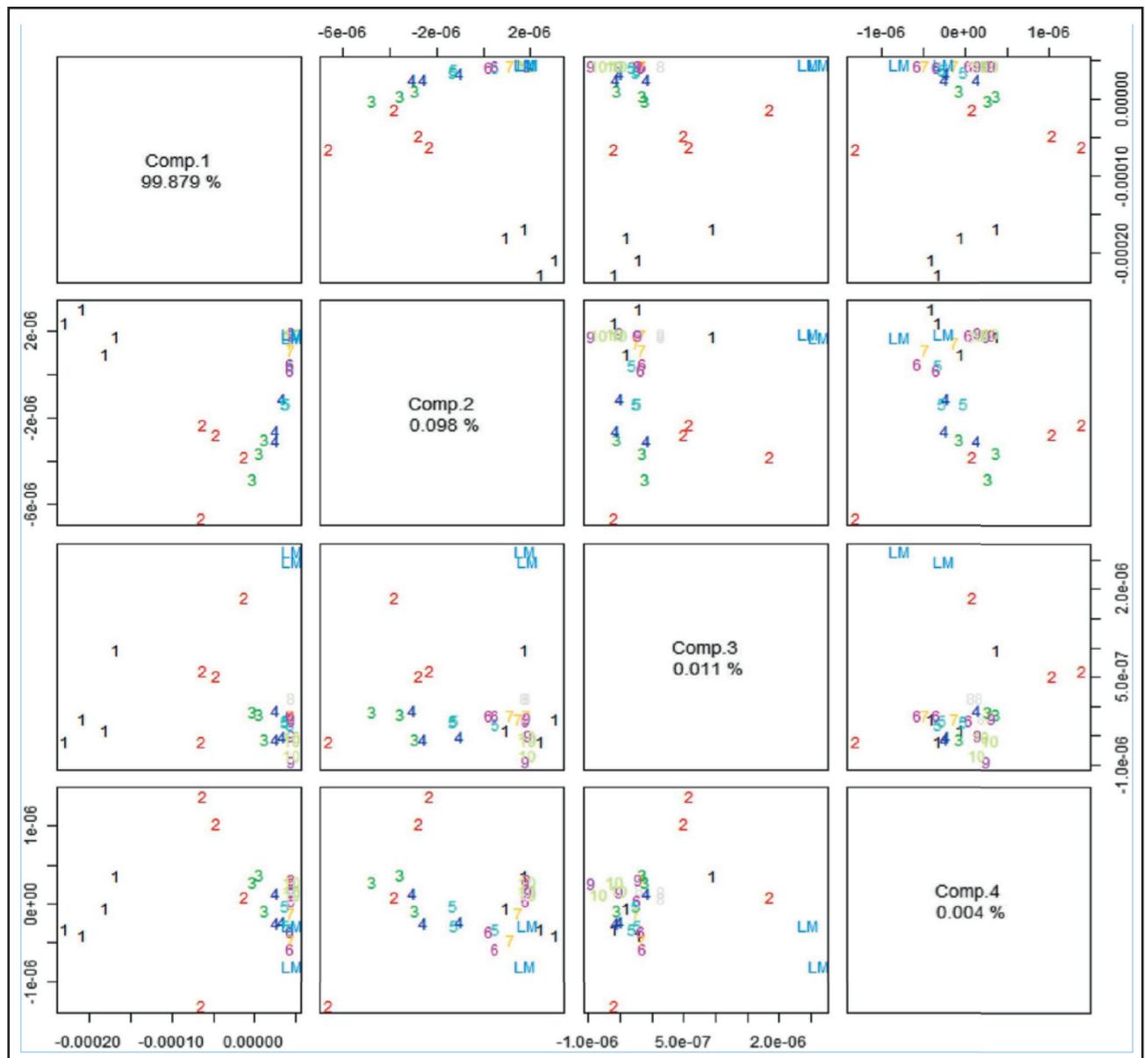


Abb. 4 PCA-Analyse der vier Hauptbestandteile von aldiamed Gel in den Spülschritten 1 – 10 sowie reine Spüllösung (LM)

Speichelersatzmitteln zu sein. Es ist nicht erforderlich, ein spezifisches Analyseverfahren, z.B. eine HPLC-Methode, für ein oder mehrere Komponenten des Produkts anzuwenden. Durch die Spektroskopie im mittleren Infrarot wird ein Gesamtspektrum für das ganze Produkt ausgegeben, was eine sehr gute Beobachtung des graduellen Verschwindens ermöglicht. Dieser Vorteil der Spektroskopie im mittleren Infrarotbereich gegenüber den oft zeitaufwendigen und teuren aktuellen Methoden wurde auch für den Nachweis und die Identifizierung von Pilzen im Haushalt [22], die Charakterisierung von Wein [23] und die klinische Analyse [24] beschrieben.

Schlussfolgerungen

Alles in allem hat die auf der Spektroskopie im mittleren Infrarot basierende AquaSpec™-Technologie sich als wertvolles Instrument zur Analyse wässriger Lösungen erwiesen. Mit dieser besonderen Technik wurden Einschränkungen der IR-Spektroskopie, insbesondere bei wässrigen Systemen, überwunden. Es handelt sich um eine sehr schnelle und empfindliche Methode zum Nachweis komplexer Matrices.

Wir konnten die geprüften Produkte selbst bei Verdünnungen von 1:500 noch nachweisen. Die Reproduzierbarkeit der Analyse war sehr gut. Mittels der Absorptionsspektren konnten wir die Verweildauern der verschiedenen Produkte sogar innerhalb einer Produktart unterscheiden. Wie aufgrund der Viskosität der Produkte zu vermuten, war die Verweildauer der Gele länger, während die Sprays unmittelbar weggespült wurden. Die Verwendung dreidimensionaler Zahnfleischmodelle, d.h. einer zellbasierten Oberfläche, ergab eine Oberfläche, die den Gegebenheiten in vivo ähnelt und verbesserte die Adhäsionseigenschaften und die Unterscheidbarkeit der Produkte. Überraschenderweise verlängerte sich die Verweildauer der Sprays auf dem Zahnfleischmodell gegenüber der Polystyroloberfläche nicht, – dies könnte auf die sehr geringe Viskosität dieser Produkte zurückgehen – doch war die Unterscheidbarkeit zwischen den Produkten feinmaschiger. In dieser Studie wurde die Verweildauer verschiedener Mundpflegeprodukte in vitro geprüft. Es war nicht das Ziel, einzelne Komponenten und ihre Adhäsionseigenschaften festzustel-

len. Doch wie sich an den COOH- bzw. OH-reichen Komponenten zeigte, wäre dies ebenfalls möglich und die Adhäsionseigenschaften könnten sich als unterschiedlich herausstellen.

In unserer Studie wurde gezeigt, dass die Spektroskopie im mittleren Infrarot in Verbindung mit dreidimensionalen Zahnfleischmodellen ein sehr empfindliches Verfahren zum Nachweis der Adhäsionseigenschaften von Speichelersatzmitteln in vitro darstellt. Es ist nicht erforderlich, ein spezifisches Analyseverfahren, z.B. eine HPLC-Methode, für ein oder mehrere Komponenten des Produkts anzuwenden. Durch die Spektroskopie im mittleren Infrarot wird ein Gesamtspektrum für das ganze Produkt ausgegeben, was eine sehr gute Beobachtung des graduellen Verschwindens ermöglicht. Darüber hinaus könnte dieses Verfahren einen ersten Schritt in Untersuchungen darstellen, die zur Ermittlung von Mundpflegeprodukten/Speichelersatzmitteln mit kurzen Verweildauern dienen, die keine relevante Verbesserung der Lebensqualität mit sich bringen.

Abkürzungen

IR: Infrarot, MIR: mittleres Infrarot, PCA: Hauptkomponentenanalyse

Interessenkonflikte

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte bestehen.

Die Arbeit wurde teilweise von Certmedica International GmbH finanziert.

Anteile der Autoren

KE: Entwurf und Entwicklung der Studie, Datenanalyse und Abfassen des Texts, AP: Durchführung der Versuche. JB: Mithilfe beim Abfassen des Manuskripts. Alle Autoren haben die Endfassung des Manuskripts gelesen und genehmigt.

Danksagungen

Die Studie wurde zum Teil von Certmedica International GmbH finanziert. Die Geldgeber hatten keinen Anteil am Studiendesign, der Datensammlung und –analyse, der Entscheidung zur Veröffentlichung oder der Vorbereitung des Manuskripts.

Literaturverzeichnis

1. Xerostomia – Helping patients with dry mouth. <http://www.oralcancerfoundation.org/complications/xerostomia.php>: Accessed 12.10.2015
2. Petersen PE. Oral cancer prevention and control – The approach of the World Health Organization. *Oral Oncol.* 2009;45:454–60.
3. Global data on incidence of oral cancer (Oral cancer 2005). http://www.who.int/oral_health/publications/cancer_maps/en/: Accessed 30.06.2015
4. Oral health, general health, and quality of life in older people. http://www.who.int/oral_health/publications/abstract_oral_health/en/. Accessed 30.06.2015
5. Proctor GB, Carpenter GH. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Auton Neurosci.* 2007;133:3–18.
6. Davies AN, Shorthose K. Parasympathomimetic drugs for the treatment of salivary gland dysfunction due to radiotherapy (review). *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;3:CD003782
7. Furness S, Bryan G, McMillan R, Worthington HV. Interventions for the management of dry mouth: non-pharmacological interventions. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;8:CD009603.
8. Sarapur S, Shilpashree HS. Salivary pacemaker: a review. *Dent Res J (Isfahan).* 2012;9 Suppl 1:S20–5.
9. Momm F, Volegova-Neher NJ, Schulte-Mönting J, Guttenberger R. Different saliva substitutes for treatment of xerostomia following radiotherapy. *Strahlenther Onkol.* 2005;181:231–6.
10. Silvestre FJ, Minguez MP, Sune-Negre JM. Clinical evaluation of a new artificial saliva in spray form for patients with dry mouth. *Med Oral Patol Cir Bucal.* 2009;14:E8–E11.
11. Hahnel S, Behr M, Handel G, Bürgers R. Saliva substitutes for the treatment of radiation-induced xerostomia – a review. *Support Care Cancer.* 2009;17:1331–43.
12. Dubois J, Shaw RA. IR spectroscopy in clinical and diagnostic application. *Anal Chem.* 2004;76:360A–7A.
13. Van Eerdenburgh B, Taylor LS. Application of mid-IR spectroscopy for the characterization of pharmaceutical systems. *Int J Pharm.* 2011;417(1–2):3–16.
14. Wang L, Mizaikoff B. Application of multivariate data-analysis techniques to biomedical diagnostics based on mid-infrared spectroscopy. *Anal Bioanal Chem.* 2008;391(5):1641–54.
15. Kong J, Yu S. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochim Biophys S.* 2007;39:549–59.
16. Pidgeon C, Apostol G, Marcovich R. Fourier transform infrared assay of liposomal lipids. *Anal Biochem.* 1989;1:28–32.
17. Jamme F, Vindigni JD, Méchin V, Cherifi T, Chardot T, Froissard M. Single cell synchrotron FT-IR microspectroscopy reveals a link between neutral lipid and storage carbohydrate fluxes in *S. cerevisiae*. *PLoS One.* 2013; doi: 10.1371/journal.pone.0074421
18. Masuch R, Moss DA. Stopped flow apparatus for time-resolved Fourier transform infrared difference spectroscopy of biological macromolecules in 1H₂O. *Appl Spectrosc.* 2003;57:1407–18.
19. Max JJ, Chapados C. Glucose and fructose hydrates in aqueous solution by IR spectroscopy. *J Phys Chem A.* 2007;111(14):2679–89.
20. Strug I, Utzat C, Cappione A 3rd, Gutierrez S, Amara R, Lento J, Capito F, Skudas R, Chernokalskaya E, Nadler T. Development of a univariate membrane-based mid-infrared method for protein quantitation and total lipid content analysis of biological samples.. *J Anal Methods Chem.* 2014; doi: 10.1155/2014/657079
21. Culbert J, Cozzolino D, Ristic R, Wilkinson K. Classification of Sparkling Wine Style and Quality by MIR Spectroscopy. *Molecules.* 2015;20(5):8341–56.
22. Dixit V, Cho BK, Obendorf K, Tewari J. Identifications of household's spores using mid infrared spectroscopy. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2013;123C:490–6.
23. Cozzolino D, Cynkar W, Shah N, Smith P. Technical solutions for analysis of grape juice, must, and wine: The role of infrared spectroscopy and chemometrics. *Anal Bioanal Chem.* 2011;401:1475–84.
24. Smilowitz JT, Gho DS, Mirmiran M, German JB, Underwood MA. Rapid Measurement of Human Milk Macronutrients in the Neonatal Intensive Care Unit: Accuracy and Precision of Fourier Transform Mid-Infrared Spectroscopy. *J Hum Lact.* 2014;30(2):180–9

Übersetzung von:

Engelhart K., Popescu A., Bernhardt J.

Using mid infrared technology as new method for the determination of the dwell time of salivary substitutes on three dimensional gingiva models.

BMC Ear, Nose and Throat disorders (2016) 16:6

DOI: 10.1186/s12901-016-0025-5

Creative Commons Attribution 4.0 International License

(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)