

1 EINLEITUNG UND ALLGEMEINER TEIL

1.1 Einleitung

Der Bevölkerung, vor allem der westlichen Länder, steht heute eine breitere Auswahl von Nahrungsmitteln zur Verfügung denn je. Dieses überreiche Angebot verursacht immer häufiger jedoch eine Über- oder Fehlernährung, (zu hoher Fettkonsum, zu geringer Ballaststoffkonsum). Folge davon ist eine steigende Rate bei den sogenannten Zivilisationskrankheiten wie der koronaren Herzerkrankung, den Schlaganfällen, der Fettleibigkeit, dem hohen Blutdruck, der Zuckerkrankheit und verschiedenen Formen von Krebs (z.B. Darmkrebs).

Glucuronoarabinoxylane (GAX) sind natürliche Pflanzeninhaltsstoffe auf Kohlenhydratbasis und kommen in größeren Mengen auch in Getreidekörnern vor. Aufgrund ihrer chemischen Struktur werden sie in der Ernährungslehre zu den Ballaststoffen gerechnet und haben möglicherweise gesundheitsfördernde Eigenschaften. Sie sind demnach funktionelle Inhaltsstoffe und es besteht großes Interesse, sie in Lebensmitteln, wie z. B. in Brot, einzusetzen, um deren Nährwert und gesundheitlichen Nutzen zu erhöhen. Das setzt eine möglichst umweltfreundliche und kostengünstige Extraktion aus pflanzlichen Matrices voraus. Es soll daher ein Verfahren beschrieben werden, um mit Hilfe von Ultraschall-Anwendung Arabinoxylane aus Getreide, speziell aus Weizen- und Roggenkleie zu gewinnen und möglichst rein darzustellen.

1.2 Definition der Ballaststoffe und ihre Notwendigkeit

Um die Rolle der Pflanzenzellwände in der menschlichen Ernährung zu beschreiben, benutzte Hipsley im Jahr 1953 erstmals den Begriff „dietary fibre“ (Ballaststoffe, Nahrungsfaser) (Hipsley, 1953). Eine aktuelle Definition des Begriffs "Ballaststoff" stellt nicht nur deren Zusammensetzung dar, sondern geht auch auf die physiologische Funktionalität ein: „Ballaststoffe bestehen aus essbaren Pflanzenteilen oder analogen Kohlenhydraten, die gegenüber der Verdauung und Absorption im menschlichen Dünndarm resistent sind und im Dickdarm teilweise oder vollständig fermentiert werden. Ballaststoffe beinhalten Polysaccharide, Oligosaccharide, Lignin und assoziierte Pflanzensubstanzen. Ballaststoffe unterstützen gesundheitsfördernde Prozesse wie die Senkung des Cholesterinspiegels und/oder die Regulierung des Blutzuckerspiegels und/oder besitzen abführende Eigenschaften“ (AACC Report, 2001).

In vielen Ländern wird eine tägliche Zufuhr von 20-35 g Ballaststoffen mit der Nahrung empfohlen (AFIC, 2004). Die durchschnittliche Ballaststoffzufuhr liegt jedoch deutlich unter diesem Richtwert. In westlichen Industrieländern beträgt die zugeführte Menge nur etwa die Hälfte. Diese Tatsache wird als eine der möglichen Ursachen für die Entstehung der oben genannten Zivilisationskrankheiten angesehen. Die Deutsche Diabetes-Stiftung geht davon aus, dass jeder Zehnte in Deutschland an Diabetes erkrankt ist. Die International Diabetes Association schätzt weltweit eine Steigerung der Anzahl der an Diabetes Erkrankten von 135 Millionen (1995) auf 300 Millionen im Jahr 2025 (King et al., 1998). Übergewicht und Bewegungsarmut sind zwei wesentliche Risikofaktoren für 90 % der am häufigsten diagnostizierten Zuckerkrankheit Diabetes mellitus Typ 2.

Ballaststoffe stellen also entgegen ihrer Bezeichnung keinen Ballast in der Nahrung dar, sondern sie sind wichtige Lebensmittelbestandteile. Eine Ernährung mit hohem Ballaststoffgehalt reduziert die Fett-, Protein- und/oder Nahrungsenergieaufnahme, dafür werden aber vermehrt Mineralien, Spurenelemente, Vitamine und Phytochemikalien mit positiven physiologischen Eigenschaften aufgenommen.

1.3 Ernährungsphysiologische Eigenschaften der Ballaststoffe

Ballaststoffe werden hinsichtlich ihrer Wasserlöslichkeit in lösliche und unlösliche Ballaststoffe unterteilt. Insbesondere lösliche, viskose Ballaststoffe haben einen positiven Einfluss auf die Regulierung des Blutzuckers und könnten, regelmäßig konsumiert, zu einer Senkung des Diabetesrisikos beitragen (Bunzel & Steinhart, 2003). Durch die Erhöhung der Viskosität der aufgenommenen Nahrung wird die Magenentleerung verlangsamt und ein Sättigungsgefühl erzeugt (Abbildung 1.3.1). Primäre Gallensäuren sind Stoffwechselprodukte des Cholesterins, die zur Unterstützung der Fettverdauung in den oberen Dünndarm abgegeben werden. In unteren Darmabschnitten werden diese jedoch rückresorbiert und stehen somit dem Körper erneut zur Verfügung. Ballaststoffe binden diese primären Gallensäuren, so dass sie vermehrt mit dem Stuhl ausgeschieden werden. Es wird körpereigenes Cholesterin verwendet (Pawelzik, 2004), um den Gallensäurepool wieder aufzufrischen, was dazu führt, dass der Cholesterinspiegel im Blut sinkt. Eng verbunden mit diesem Effekt ist die Beobachtung, dass ein erhöhter Verzehr an Ballaststoffen das Risiko, an koronaren Herzerkrankungen zu erkranken, herabsetzt. Im Dickdarm werden die Ballaststoffe durch die dort ansässigen Bakterien teilweise oder vollständig abgebaut. Während der Fermentation werden kurzkettige Fettsäuren (SCFA) (Acetat, Propionat und *n*-Butyrat), Kohlendioxid, Wasserstoff und Methan gebildet. Diese Abbauprodukte hemmen die körpereigene Cholesterinbildung (Pawelzik, 2004). Durch die Produktion der SCFA im Dickdarm kommt es zu einer Erniedrigung des pH-Wertes, was eine verminderte Umsetzung von primären zu sekundären Gallensäuren und eine geringere Löslichkeit der sekundären Gallensäuren zur Folge hat.

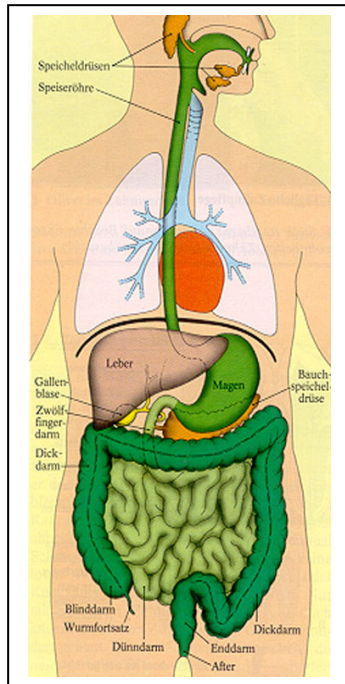


Abbildung 1.3.1: Allgemeines Modell eines Gastrointestinaltraktes (Strauß, 1993)

Substanzen (James et al., 1978). Aus dem beschleunigten Kolontransit resultiert eine kürzere Kontaktzeit von Karzinogenen mit der Darmwand. Eine vermehrte Aufnahme von Ballaststoffen könnte auch bei Übergewicht oder bei der Behandlung von Krankheiten wie Hyperlipidämie und Diabetes nützlich sein.

Sekundäre Gallensäuren sind im gelösten Zustand wahrscheinlich kolonkarzinogen. Acetat und Propionat können über das Portalblut zur Leber gelangen und hemmen dort für die Cholesterinsynthese erforderliche Enzyme. Die verminderte Cholesterinneubildung führt zu einer Senkung des Cholesterinspiegels im Blut. Bei Tumorzellen hemmt *n*-Butyrat das Zellwachstum und induziert Differenzierung und Apoptose (Scheppach, 1996). Eine gesteigerte Ballaststoffaufnahme führt zu einer Erhöhung des Stuhlgewichtes, was die Darmperistaltik auf natürliche Weise anregt (Pawelzik, 2004) und die gastrointestinale Transitzeit verkürzt. Dadurch werden Verstopfung und Hämorrhoiden vorgebeugt. Vor allem die wasserunlöslichen Ballaststoffe erhöhen das Stuhlgewicht/-volumen durch ihr hohes Wasserbindevermögen ("Bulking-Effekt") und verkürzen die Verweildauer des Speisebreis im Darm. Dies führt zu einer verminderten Aufnahme von Cholesterin durch die Darmwand. Ballaststoffe binden ebenfalls Karzinogene und andere schädliche

1.4 Klassifikation der Ballaststoffe

Entsprechend der o.a. Definition sind alle unverdaulichen Polysaccharide natürlicher Herkunft Bestandteile der Ballaststoffe (Tabelle 1.4.1): Cellulose, Glucuronoarabinoxylane, Pektine, polymere Fructane, Pflanzengummis und Pflanzenschleime (Theander et al., 1993). Neben Lignin (Tabelle 1.4.1), einem Mischpolymer aus Phenylpropanen, werden ebenfalls die mit dem Nicht-Stärke-Polysaccharid- und Lignin-Komplex „assoziierten Substanzen“ zu den Ballaststoffen gerechnet. Von diesen Ballaststoffkomponenten bilden die Bestandteile der pflanzlichen Zellwand den größten Anteil in der Nahrung. Da in den meisten europäischen Ländern Getreide (Gräserfamilie, *Gramineae*) die Hauptquelle für Ballaststoffe darstellen, sind die Bestandteile der Getreidezellwände von größter Bedeutung.

Tabelle 1.4.1. Klassifizierung und Strukturmerkmale der Ballaststoffe von pflanzlichen Zellwänden (Theander et al., 1993; McDougall et al., 1996)

Ballaststoffe	Hauptkette	Seitenkette
Polysaccharide		
Cellulose	$\rightarrow 4\text{)}\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow$	keine
Glucuronoarabinoxylane	$\rightarrow 4\text{)}\text{-}\beta\text{-D-Xylp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Xylp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Xylp}(1\rightarrow$	Ara, GlcA
Mixed-linked β -Glucane		
Cellotriosyl-Einheiten	$\rightarrow 3\text{)}\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow$	keine
Cellotetraosyl-Einheiten	$\rightarrow 3\text{)}\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow$	keine
Xyloglucane	$\rightarrow 4\text{)}\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glcp}(1\rightarrow$	Xyl, Gal, und Fuc als Xyl (-Gal)-(Fuc) ^a
Pektine		
Galakturonan	$\rightarrow 4\text{)}\text{-}\alpha\text{-D-GalpA}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA}(1\rightarrow$	keine
Rhamnogalakturonan	$\rightarrow 4\text{)}\text{-}\alpha\text{-D-GalpA}(1\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}(1\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA}(1\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap}(1\rightarrow$	Arabinane, Galaktane
Arabinan	$\rightarrow 5\text{)}\text{-}\alpha\text{-L-Araf}(1\rightarrow 5)\text{-}\alpha\text{-L-Araf}(1\rightarrow 5)\text{-}\alpha\text{-L-Araf}(1\rightarrow$	keine
Nicht-Polysaccharide		
Bausteine		
Lignin	Sinapylalkohol, Coniferylalkohol, p-Cumarylalkohol	

^a-Xyloglucan kann mit $\alpha(1\text{-}6)$ Xyl oder $\alpha(1\text{-}6)$ Xyl $\beta(1\text{-}2)$ Gal oder $\alpha(1\text{-}6)$ Xyl $\beta(1\text{-}2)$ Gal $\alpha(1\text{-}2)$ Fuc-Einheiten substituiert sein

1.5 Ballaststoffkomponenten und deren Strukturen

Mehr als 100 natürlich vorkommende unterschiedliche Monosaccharide sind beschrieben. Von denen kommen jedoch im allgemeinen nur zehn als Monomere der Zellwandpolysaccharide vor: $\alpha\text{-L-Arabinofuranose}$, $\beta\text{-D-Xylopyranose}$, $\beta\text{-D-Mannopyranose}$, $\beta\text{-D-Glucopyranose}$, $\beta\text{-D-Galaktopyranose}$, $\alpha\text{-L-Rhamnopyranose}$, $\alpha\text{-L-Fucopyranose}$ sowie die Uronsäuren $\alpha\text{-D-Glucopyranuronsäure}$, 4-O-Methyl- $\alpha\text{-D-Glucopyranuronsäure}$ und $\alpha\text{-D-Galaktopyranuronsäure}$ (Theander et al., 1993) (Abbildung 1.5.1).

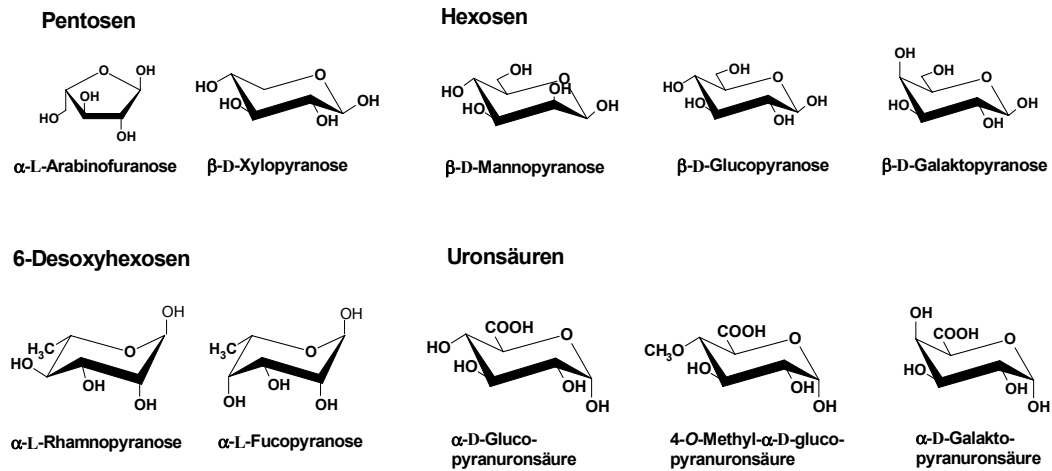


Abbildung 1.5.1: Monomere der pflanzlichen Zellwandpolysaccharide (Theander et al., 1993)

1.5.1 Cellulose

Das am häufigsten in der Natur vorkommende Pflanzenpolysaccharid Cellulose besteht aus β -Glucopyranoseresten, die über (1 $\rightarrow$ 4)-Bindungen verknüpft sind (Abbildung 1.5.1.1). Cellulose ist sehr hochmolekular. Je nach Herkunft werden Polymerisationsgrade von 1000 bis 14000 angegeben (Belitz & Grosch, 1987). Auf Grund der hohen molaren Masse und der festen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Zuckereinheiten in der Kette ist Cellulose in Wasser unlöslich. Der Celluloseanteil in den Zellwänden des Endosperms (Mehlkörper) von Getreide beträgt 10-15 %, kann aber auch bis zu 30 % der Zellwand darstellen (Bunzel & Steinhart, 2003). In den äußeren Schichten des Getreidekorns ist durch den höheren Anteil an Zellen mit Sekundärwand der Celluloseanteil erhöht.

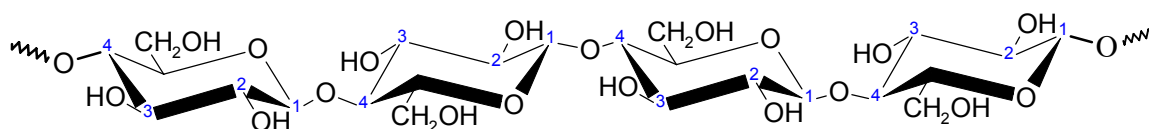


Abbildung 1.5.1.1: Strukturmerkmale von Cellulose (McDougall et al., 1996)

1.5.2 β -Glucane

Mixed-linked β -Glucane kommen in Gerste und Hafer (6-8 %) sowie in Roggen und in Weizen (0,5-2 %) vor. Die linearen Polysaccharidketten bestehen aus Cellotriosyl- und Cello-tetraosyleinheiten in unterschiedlichen Verhältnissen (Tabelle 1.4.1), deren D-Glucopyranose-Einheiten β -1,3 und β -1,4 verknüpft sind (Abbildung 1.5.2.1).

β -Glucane sind leichter wasserlöslich und leichter zu hydrolysieren als Cellulose. Von den β -Glucanen der Gerste sind 30-60 % bei 65 °C löslich (Belitz & Grosch, 1987). Der daraus resultierende starke Anstieg der Viskosität erschwert bei der Bierbereitung die Filtration der Würze.

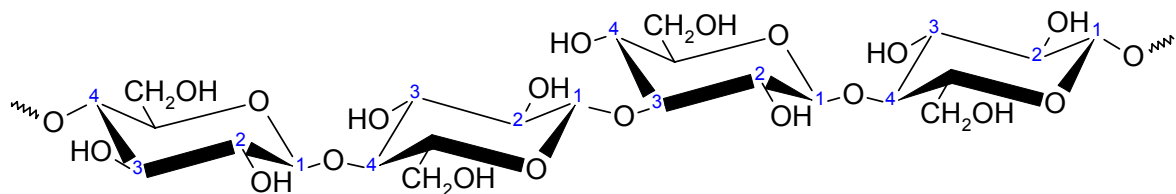


Abbildung 1.5.2.1: Strukturmerkmale von β -Glucanen (McDougall et al., 1996)

1.5.3 Pektine

Wegen ihrer Gelier-, Stabilisierungs- und Dickungseigenschaften werden Pektine als Zusatzstoffe in der Lebensmitteltechnologie häufig angewendet. Pektine bestehen vorwiegend aus (1 $\rightarrow$ 4)-verknüpfter α -D-Galakturonsäure (Tabelle 1.4.1). Die Hauptkette besitzt Abschnitte, in denen L-Rhamnose angereichert ist. In geringer Menge enthält Pektin auch D-Galaktane, L-Arabinane und Arabinogalaktane in kovalenter Bindung an das Galakturonan. Neutrale Polysaccharide, die oft Arabinose- und Galactose-Einheiten enthalten, werden mit Pektinen stark assoziiert.

1.5.4 Lignin

Hauptquelle des Lignins sind die Leinsamen (Adlercreutz et al., 1997). Auch Roggen stellt unter Berücksichtigung der Verzehrsmengen eine wichtige Ligninquelle dar. Gerade Getreideballaststoffe werden in der Literatur häufig als „stark lignifiziert“ beschrieben. Die physiologischen Eigenschaften von Ballaststoffen aus Getreidekleien werden oft mit ihrem hohen Ligningehalt in Verbindung gebracht.

So wird z. B. die Bindung von Karzinogenen an Lignin diskutiert (Ryden & Robertson, 1995) und auch die geringe Fermentierbarkeit einiger Ballaststoffe wird mit der Lignifizierung erklärt. Lignin stellt ein dreidimensionales, polymeres Naturprodukt dar (Tabelle 1.4.1), das durch enzymatisch initiierte Dehydrogenierungs-Polymerisation dreier primärer Vorstufen Coniferyl-, Sinapyl- und *p*-Cumarylalkohol entsteht (Abbildung 1.5.4.2). Diese Vorstufen (Monolignole) werden im Phenylpropanstoffwechsel aus den Hydroxyzimtsäuren (Ferulasäure, Sinapinsäure und *p*-Cumarsäure) (Abbildung 1.5.4.1) gebildet und häufig nach ihrem aromatischen Kern auch als *p*-Hydroxyphenyl-, Guaiacyl-, und Syringyl-Einheiten bezeichnet.

Das Verhältnis dieser phenolischen Einheiten ist charakteristisch für Unterschiede im Aufbau des Lignins aus verschiedenen Pflanzenquellen. Während der komplexen Polymerisation durch radikalische Kopplungsreaktionen werden sowohl Ether- als auch C-C-Bindungen gebildet. *p*-Cumarsäure und Ferulasäure sind mit den Polysacchariden und Lignin über Ester- und Etherbindungen miteinander verknüpft (Lam et al., 1992). Dehydrodiferulasäuren, Dimere der Ferulasäure, bilden die Brücken zwischen Polysacchariden durch Esterbindungen.

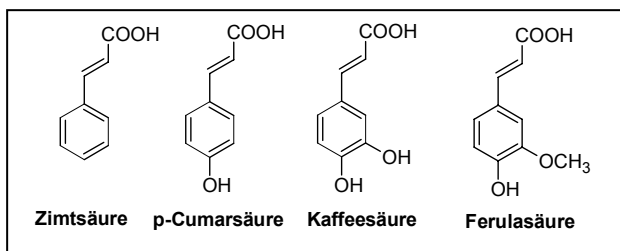


Abbildung 1.5.4.1: Hydroxyzimtsäuren

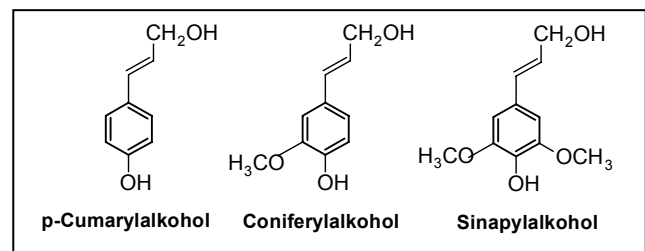


Abbildung 1.5.4.2: Monolignole

(Bunzel & Steinhart, 2003; McDougall et al., 1996)

1.5.5 Arabinoxylane

1.5.5.1 Vorkommen

Weizen und Roggen weisen Arabinoxylane (AX) als dominierende Hemicellulosen auf, die auch als Pentosane benannt wurden. Arabinoxylane kommen vor allem in den Randschichten und Gerüstgeweben, insbesondere in der Kleie vor. Weizen- und Roggenkleie umfassen die äußere Schale (Testa und Perikarp), die Aleuronschicht und die Reste des stärkehaltigen Endosperms (Abbildung 1.5.5.1.1).

Die Ballaststoffe von Weizen- und Roggenkleie bestehen hauptsächlich aus Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP), deren Gehalt etwa 55 % in Weizenkleie und ca. 39 % in Roggenkleie beträgt. Die Hauptbestandteile der NSP sind die Glucuronoarabinoxylane ((ca. 70 % in Weizenkleie (Maes & Delcour, 2001), 37-49 % in Roggenkleie (Nilsson et al., 1996; Karppinen et al., 2001)), die Cellulose (30 %) und die β -Glucane (2-3 %). Außerdem sind Stärke (10-20 %), Proteine (15-22 %), Lignin (4-8 %) und einige Minorbestandteile wie Arabinogalactane, Glucomannane in der Aleuronschicht und Xyloglucane im Perikarp enthalten.

Weizen- und Roggenkleie fallen als Nebenprodukt bei der Herstellung des Weizen- und Roggenmehles in Ausbeuten von 14 bis 19 % des Korns an.

Die Welternte an Weizen wurde in 2004 auf 620 Mio. t (Vorjahr 560 Mio. t) geschätzt, während sich die Welternte für Roggen nur auf 40 Mio. t belief (<http://www.gral.de>; Landwirtschaft & Ernährung, 2004). Nach Angaben des Verbandes Deutscher Mühlen fallen in Deutschland jährlich etwa 830000 Tonnen Weizenkleie aus 5,5 Mio. t Weichweizen an. Dieses in großen Mengen produzierte Mühlennebenprodukt wird meistens als Futtermittel genutzt. Der AX-Gehalt hängt von der Getreidesorte und Umweltfaktoren ab. Eine kalte, feuchte Jahreszeit und kleine Körner haben einen hohen AX-Gehalt zur Folge (Saastamoinen et al., 1989). Der gesamte AX-Gehalt der Kleie ist höher als im Endosperm. Das Verhältnis der wasserlöslichen AX zu den gesamten AX ist für die endospermreichen Fraktionen höher als für die kleiereichen Fraktionen (Delcour et al., 1989). AX in Roggen- und Weizenkleie sind meistens nicht mit Wasser extrahierbar, sondern es können nur 1-3 % mit Wasser extrahiert werden. Der Grund für die fehlende Wasserextrahierbarkeit ist eine sehr feste Verbindung durch nicht-kovalente und kovalente Verbindungen untereinander und mit anderen Zellwandbestandteilen wie Proteinen, Lignin und Cellulose.

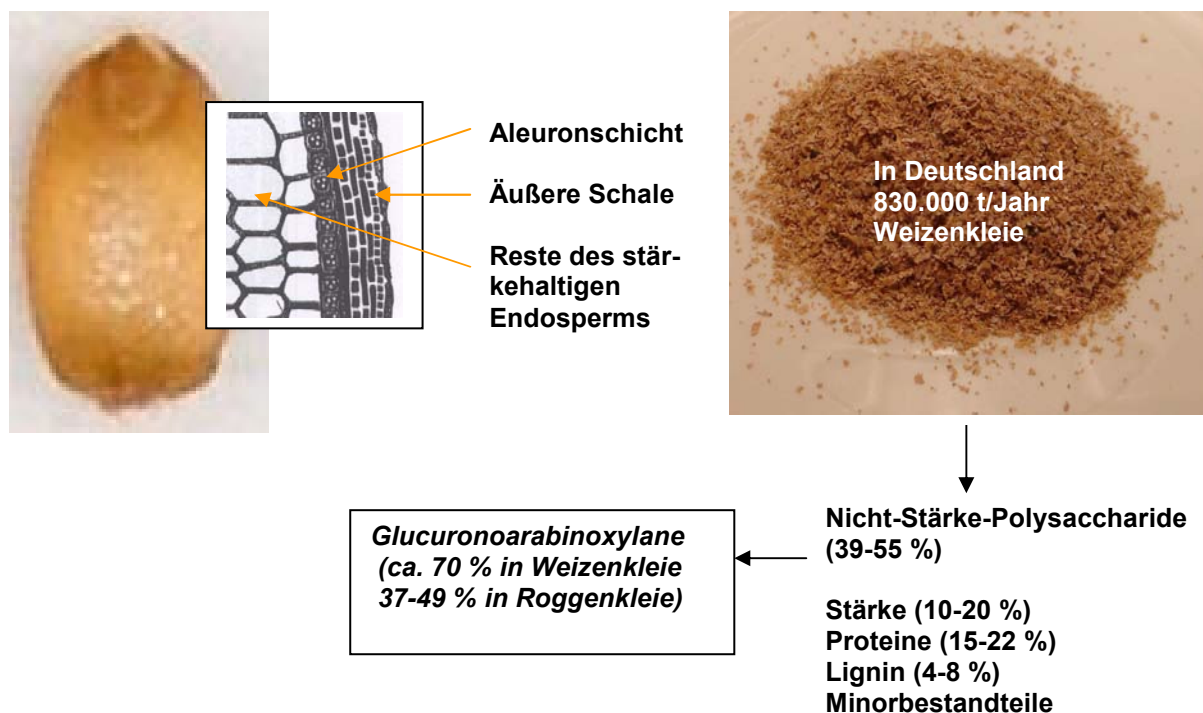


Abbildung 1.5.5.1.1: Morphologischer Aufbau des Getreidekornes und die Gehalte der Inhaltsstoffe der Weizen- und Roggenkleie

1.5.5.2 Struktur der AX und Verbindungen mit anderen Zellwandkomponenten

Von einem strukturellen Gesichtspunkt aus gibt es einen größeren Unterschied im Aufbau zwischen AX aus stärkehaltigem Endosperm und aus Kleie. Arabinoxylane weisen eine strukturelle Heterogenität auf.

Variabel in der Struktur sind der Arabinosesubstitutionsgrad, die Verteilung der Substituenten und die Verbindungen mit anderen Zellwandkomponenten. In Weizen- und Roggenkleie sind überwiegend saure und wasserunlösliche AX vorhanden, während im Endosperm neutrale und wasserlösliche AX vorliegen (Ring & Selvendran 1980; Theander et al., 1993). Vinkx & Delcour (1996) berichteten, dass die AX in der Weizenkleie hochverzweigt sind. Die AX enthalten beträchtliche Mengen von Arabinose (2-, 3-, 5-, oder 2,3-verknüpft), endständigen Xylose, Galactose und (4-O-Methyl)-Glucuronsäuren. Die hoch verzweigten AX sind meistens durch Endoxylanasen nicht angreifbar, während die weniger verzweigten AX leichter abbaubar sind.