

Deutsches Institut für Ernährungsforschung
Präventiv-medizinische Lebensmittelforschung

Haferprodukte mit modifiziertem Gehalt an β -Glucanen und resistenter Stärke und ihre Effekte auf den Gastrointestinaltrakt unter *In-vitro*- und *In-vivo*-Bedingungen

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
"doctor rerum naturalium"
(Dr. rer. nat.)
in der Wissenschaftsdisziplin "Physiologie der Ernährung"

eingereicht an der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Potsdam

von
Barbora Držíková

Potsdam, den 30.05.2005

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Hafer, seine Bedeutung und Verwendung	1
1.1.1 Aufbau des Haferkorns.....	2
1.1.2 Zusammensetzung von Hafer.....	2
1.2 Ballaststoffe.....	5
1.2.1 Definition	5
1.2.2 Herkunft der Ballaststoffe	6
1.2.3 Chemische Struktur der Zellwandkomponenten	6
1.3 Funktionelle Eigenschaften von Ballaststoffen mit physiologischer Relevanz.....	8
1.3.1 Löslichkeit.....	8
1.3.2 Wasserbindungsvermögen	8
1.3.3 Ionen-Bindungs-Kapazität	9
1.3.4 Steroidbindung	9
1.3.5 Fermentation der Ballaststoffe und Bildung von kurzkettigen Fettsäuren.....	10
1.3.6 Physiologische Effekte von SCFA	11
1.3.7 Steroide, Ballaststoffe und Lipidmetabolismus	12
1.3.7.1 Gallensäuren.....	12
1.3.7.2 Physiologische Relevanz der Gallensäuren.....	13
1.3.7.3 Neutrale Sterole.....	14
1.3.7.4 Steroide und Colonicarcinom.....	14
1.3.8 Physiologische Wirkungen der Ballaststoffe	15
1.4 β-Glucan in Hafer.....	16
1.4.1 Definition	16
1.4.2 Lokalisation der β -Glucane in der Karyopse.....	16
1.4.3 Löslichkeit und Viskosität des β -Glucans	17
1.4.4 Ernährungsphysiologische Wirkungen von β -Glucan.....	17
1.5 Resistente Stärke	19
1.5.1 Definition	19
1.5.2 Generierung von RS durch Extrusion und Autoklavieren	20
1.6 Functional Foods	21
2 Aufgabenstellung	22
3 Material und Methoden	24
3.1 Herstellung und Zusammensetzung der Haferproben	24
3.1.1 Verwendete Getreide- und Resistente-Stärke-Präparate	24
3.1.2 Aufarbeitung der Haferprodukte	25
3.1.3 Extrusionstechnik	25
3.1.4 Autoklavieren von Hafer	26
3.1.5 Versuchsmaterial für die <i>In-vitro</i> -Untersuchungen.....	26
3.1.6 Versuchsmaterial für die <i>In-vivo</i> -Untersuchungen	26
3.1.7 Herstellung und Zusammensetzung der Diäten für den Fütterungsversuch	27

3.2	Analyse der Haferproben und –präparate.....	29
3.2.1	Basisanalytik der Inhaltsstoffe	29
3.2.2	Bestimmung von resistenter Stärke.....	29
3.2.3	Extraktion und Bestimmung von β -Glucan	30
3.2.4	Ballaststoffbestimmung.....	31
3.2.5	Bestimmung der Wasserbindung	32
3.2.6	Bestimmung der Brabender-Viskosität	32
3.2.7	Bestimmung der Säure-Extrakt-Viskosität.....	32
3.2.8	Bestimmung des Molekulargewichts der β -Glucane	33
3.2.9	Herstellung der β -Glucanextrakte für die rheologischen Messungen.....	33
3.2.10	Rheologische Messungen.....	34
3.3	<i>In-vitro</i>-Untersuchungen.....	35
3.3.1	<i>In-vitro</i> -Verdauung der Haferextrudate	35
3.3.2	Stärkeverdauung <i>in vitro</i> in Gegenwart von Haferextrudaten und Ballaststoffen ...	36
3.3.3	Bestimmung des Gallensäurenbindungsvermögens <i>in vitro</i>	36
3.3.4	<i>In-vitro</i> -Fermentation.....	37
3.4	<i>In-vivo</i>-Untersuchungen.....	37
3.4.1	Fütterungsversuch an Ratten	37
3.4.2	Ernährungsversuch am Menschen.....	38
3.4.3	Bestimmung der Serumlipide.....	38
3.4.4	Bestimmung der Keimzahlen	39
3.4.5	Bestimmung von Gallensäuren und neutralen Sterolen	39
3.4.5.1	Probenvorbereitung für die Analyse	39
3.4.5.2	Bestimmung der neutralen Sterole	40
3.4.5.3	Festphasenextraktion der Gallensäuren.....	40
3.4.5.4	Derivatisierung der Glycinkonjugate und freie Gallensäuren.....	40
3.4.5.5	Derivatisierung der Gesamt-Gallensäuren als freie Gallensäuren	41
3.4.5.6	Bestimmung der Gallensäuren	41
3.4.6	Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren.....	41
3.5	Histologische und immunhistochemische Untersuchungen	42
3.5.1	Gewinnung und Aufarbeitung der Gewebeproben.....	42
3.5.2	Färbung der Gewebeschnitte.....	42
3.5.2.1	Vorbereitung der Gewebeschnitte.....	42
3.5.2.2	Hämatoxylin-Eosin-Färbung (H&E-Färbung).....	43
3.5.2.3	Alzianblau(2,5)-Perjodsäure-Schiff-Färbung [AB(2,5)-PAS-Färbung]	43
3.5.2.4	Immunhistochemischer Nachweis des aktiven Caspase 3-Antigens.....	44
3.5.3	Auswertung der histologischen Schnitte.....	45
3.5.3.1	Mikroskopie und Mikrofotografie.....	45
3.5.3.2	Aufbau der Darmwand	45
3.5.3.3	Anzahl der Becherzellen und Mucinzusammensetzung.....	46
3.5.3.4	Anzahl der proliferierenden Zellen	46
3.5.3.5	Anzahl der apoptotischen Zellen.....	46
3.5.4	Verwendete Chemikalien, Lösungen und Verbrauchsmaterialien.....	46
4	Ergebnisse	47
4.1	Charakterisierung der Haferprodukte (technologische Versuche).....	47
4.2	<i>In-vitro</i>-Untersuchungen.....	49

4.2.1	Zusammensetzung der Extrudate für die <i>In-vitro</i> -Untersuchungen.....	49
4.2.2	Wasserbindung.....	50
4.2.3	Beeinflussung der Stärkeverdauung <i>in vitro</i> durch Haferextrudate.....	51
4.2.4	Bindung von Gallensäuren.....	52
4.2.5	Bildung von SCFA bei der Fermentation der Extrudate.....	55
4.3	Zusammensetzung und funktionelle Eigenschaften der Versuchsmaterialien für die <i>In vivo</i>-Untersuchungen.....	58
4.3.1	Zusammensetzung der Versuchsmaterialien.....	58
4.3.2	Funktionelle Eigenschaften der Versuchsmaterialien.....	59
4.3.2.1	Wasserbindung.....	59
4.3.2.2	Säure-Extrakt-Viskosität.....	60
4.3.2.3	Molekulargewicht der β -Glucane.....	60
4.3.3	Rheologische Charakterisierung von β -Glucanpräparaten aus den Haferprodukten.....	61
4.3.3.1	Frequenzsweep.....	62
4.3.3.2	Amplitudensweep.....	64
4.3.3.3	Scherversuche.....	65
4.4	Fütterungsversuch an Ratten.....	67
4.4.1	Charakterisierung der Futterproben.....	67
4.4.2	Befinden der Tiere während des Versuchs.....	67
4.4.3	Futter- und Wasseraufnahme sowie Gewichtsentwicklung.....	68
4.4.4	Serumlipide.....	69
4.4.5	Keimzahlen.....	70
4.4.6	Organgewichte.....	70
4.4.7	Darminhalte und Faeces.....	72
4.4.8	Kurzkettige Fettsäuren.....	74
4.4.9	Gallensäuren und neutrale Sterole.....	77
4.4.9.1	Gallensäuren in Caecuminhalten der Ratten.....	77
4.4.9.2	Gallensäuren in Coloninhalten der Ratten.....	80
4.4.9.3	Gallensäuren in den Faeces der Ratten.....	81
4.4.9.4	Neutrale Sterole in Darminhalten der Ratten.....	82
4.4.9.5	Neutrale Sterole in den Faeces der Ratten.....	84
4.4.9.6	Gesamtsteroide.....	84
4.5	Ernährungsversuch am Menschen.....	86
4.5.1	Befinden der Probanden.....	86
4.5.2	Serumlipide.....	86
4.5.3	Keimzahlen.....	87
4.5.4	Faecesparameter.....	87
4.5.5	Kurzkettige Fettsäuren.....	89
4.5.6	Gallensäuren und neutrale Sterole.....	90
4.5.6.1	Gallensäuren.....	90
4.5.6.2	Neutrale Sterole.....	92
4.5.6.3	Gesamtsteroide.....	94
4.6	Histologie und Immunhistochemie.....	95
4.6.1	Ermittlung der Dicke der Darmwandschichten.....	95
4.6.2	Anzahl der Becherzellen und Mucinzusammensetzung.....	97
4.6.3	Anzahl der mitotischen und apoptotischen Zellen.....	99

5	Diskussion.....	102
5.1	Charakterisierung der Haferprodukte sowie der extrudierten und autoklavierten Haferproben (technologische Versuche)	102
5.2	<i>In-vitro</i>-Testung der Haferproben	103
5.3	<i>In vivo</i>-Untersuchungen und funktionelle Eigenschaften der Proben.....	106
5.3.1	Zusammensetzung der Versuchsmaterialien	106
5.3.2	Funktionelle Eigenschaften	106
5.3.3	Rheologische Charakterisierung der β -Glucanpräparate aus den Haferprodukten	107
5.3.4	<i>In-vivo</i> -Testung der Haferproben im Rattenversuch	109
5.3.5	<i>In-vivo</i> -Testung des RS-reichen Haferpräparates im Humanversuch	117
6	Zusammenfassung.....	120
7	Ausblick.....	122
8	Literaturverzeichnis.....	123
9	Anhang.....	A

Eidesstattliche Erklärung

Lebenslauf

Danksagung

Abkürzungsverzeichnis

(H&E)-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
α MC	α -Muricholsäure
β MC	β -Muricholsäure
KLC	12-Ketolithocholsäure
β, α	3 β ,12 α -Dihydroxycholansäure
KDC	7-Ketodesoxycholsäure
AB	Alzianblau
AB(2,5)-PAS-Färbung	Alzianblau(2,5)-Perjodsäure-Schiff-Färbung
AEV	Säure-Extrakt-Viskosität (engl.: acid-extract viscosity)
AKVM	Antikörperverdünnungsmedium
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AUS	Alkohol-unlösliche Substanz
BMC	4-Brommethyl-7-methoxycumarin
BS	Ballaststoffe
C	Cholsäure
CA	rheologische Zustandsgleichung von CASSON
CDC	Chenodesoxycholsäure
CFU	Kolonie-bildende Einheiten (engl.: colony-forming units)
DC	Desoxycholsäure
ES	Essigsäure
EtOH	Ethanol
FID	Flammenionisationsdetektor
GCA	Glycocholsäure
GC	Gaschromatographie
GCDC	Glycochenodesoxycholsäure
GS	Gallensäure
HB	rheologische Zustandsgleichung von HERSCHEL-BULKLEY
HDC	Hyodesoxycholsäure
HDL	High-Density Lipoproteins
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl.: High Performance Liquid Chromatography)

HPTLC	Hochleistungsdünnschichtchromatographie (engl.: High Performance Thin Chromatography)
LC	Lithocholsäure
LDL	Low-Density Lipoproteins
LEM	Lamina epithelialis mucosae
LPM	Lamina propria mucosae
LMM	Lamina muscularis mucosae
lvB	linear-viskoelastische Bereich
MGV	Verhängungsmolekulargewicht
MS	Maisstärke
NDO	unverdauliche Oligosaccharide (engl.: Not-Digestible Oligosaccharides)
NS	neutrales Sterol
NSP	Nicht-Stärke-Polysaccharide
OW	rheologische Zustandsgleichung von OSTWALD/DE WAELE
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
PBST	PBS-Tween 20
POD	Meerrettich-Peroxidase
prox.	proximal
RS	resistente Stärke
SCFA	kurzkettige Fettsäure (engl.: Short-Chain Fatty Acid)
StreptAB-Komplex/POD	Streptavidin-Biotin-Komplex/Meerrettich-Peroxidase
TC	Taurocholsäure
TCDC	Taurochenodesoxycholsäure
TDC	Taurodesoxycholsäure
TM	Trockenmasse
TMC	Tunica mucosa
TML	Tunica muscularis
TS	Tunica submucosa
UDC	Ursodesoxycholsäure
UV	ultraviolett
VZ	Vakuum-Zentrifugalverdampfer
WBK	Wasserbindungskapazität
WW	Wechselwirkung

1 Einleitung

In einer Zeit, in der eine Zunahme von ernährungsbedingten Erkrankungen in steigendem Maße zu beobachten ist, wird dem Getreide als Grundlage der menschlichen Ernährung erhöhte Aufmerksamkeit gewidmet. Zu den ernährungsabhängigen gesundheitlichen Risiken gehören Diabetes Mellitus Typ II, Fettsucht sowie Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems. Unter den Krebsarten weist das Colonicarcinom eine enge Korrelation mit der Ernährung auf. Getreideprodukte sind in unserer Ernährung die wichtigste Quelle für Ballaststoffe (BS) (Cummings & Fröhlich, 1993). Ein hoher Verzehr von BS ist ein wesentlicher Aspekt der präventiv-medizinischen Ernährung. Die von der Deutschen Gesellschaft für Ernährung empfohlene tägliche Ballaststoffzufuhr liegt bei 30 g (DGE, 2000). Die Aufnahme von BS ist jedoch in Deutschland deutlich unterhalb dieser empfohlenen Menge. Deshalb ist es wünschenswert, Getreideprodukte herzustellen, die dazu beitragen, die Ballaststofflücke in unserer Ernährung zu schließen. Eine Getreideart mit besonderem ernährungsphysiologischem Wert, die sich durch einen hohen Gehalt an biologisch wertvollem Protein, an ungesättigten Fettsäuren, an BS wie β -Glucan und an Vitaminen wie Thiamin auszeichnet, ist der Hafer (Kestin *et al.*, 1990; Maier *et al.*, 2000). Deswegen ist es empfehlenswert, den Konsum von Haferprodukten zu erhöhen.

Daraus leiten sich für die vorliegende Arbeit die folgenden Ziele ab: zum einen die Herstellung neuer Haferprodukte mit erhöhtem Gehalt an β -Glucan und resistenter Stärke; zum anderen die Bestimmung der für die ernährungsphysiologische Wirkung besonders relevanten Eigenschaften und Effekte dieser Haferprodukte, darunter vorrangig die Bindung von Wasser, Gallensäuren und neutralen Sterolen, die Produktion von kurzkettigen Fettsäuren sowie der Einfluss auf den distalen Intestinaltrakt. Als Basis für die Produkte wurden Hafermehl und Haferkleie eingesetzt.

1.1 Hafer, seine Bedeutung und Verwendung

Die Gattung *Avena* gehört zum Tribus *Avenae* innerhalb der Unterfamilie *Pooideae* der Süßgräser (*Poaceae*). Die in der Arbeit verwendeten Sorten zählen zur Art *Avena sativa*.

Hafer (*Avena sativa* L.) nimmt in Deutschland unter den Getreidearten den sechsten Platz in Bezug auf Anbaufläche und Ertrag ein (BMVEL, 2004). Die Anbaufläche ging zwischen 1982 und 2004 von 723 000 ha auf 227 000 ha zurück, während im gleichen Zeitraum der Ertrag von 43 dt/ha auf 52 dt/ha anstieg (BSA, 2004; BMVEL, 2004). Der Hafer wird in der Ernährung der Menschen sowie zur Tierfütterung eingesetzt. Trotz des zurückgegangenen Einsatzes in der Humanernährung werden Haferprodukte vom Verbraucher gut akzeptiert. Hafer wird vor allem in Form von Haferflocken und Speisekleieprodukten als Zutat in verschiedenen Lebensmitteln wie Frühstücks-Cerealien verwendet.

1.1.1 Aufbau des Haferkorns

Das Haferkorn besteht aus mehreren Schichten, die unter technologischen und ernährungsphysiologischen Aspekten unterschiedlich zu bewerten sind. Keimling, Endosperm (Mehlkörper), Aleuronschicht und Kleie sind die Bestandteile der entspelzten Haferkerne (Abb. 1.1-1).

Der Embryo bildet mit dem Scutellum den Keimling. Dieser macht weniger als 3 % des entspelzten Korns aus. Das Endosperm, das die Nährstoffe für den Keimling liefert, ist von Aleuronzellen umgeben. Die Aleuronzellen sind von einer mehrschichtigen Frucht- und Samenschale (Kleie) umgeben. Die Spelzen, die bei der Gewinnung der Haferkerne entfernt werden, sind am Gewicht des Haferkorns mit ca. 28 % beteiligt. Für die Ernährung der Menschen sind sie wertlos (Kühnau & Ganßmann, 1987; Slavin *et al.*, 2000).

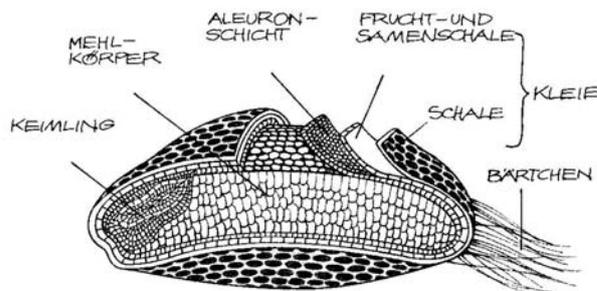


Abb. 1.1-1: Vereinfachte schematische Darstellung des Haferkornes nach McMullen (2000).

1.1.2 Zusammensetzung von Hafer

Unter den verschiedenen Getreidearten nimmt der Hafer eine Sonderstellung ein. Er enthält hochwertiges Pflanzenfett, biologisch wertvolles Eiweiß sowie eine Vielzahl von Mineralien und Vitaminen. Der Gehalt an Inhaltsstoffen variiert bei verschiedenen Haferkulturen in Abhängigkeit von den Anbau- und Wachstumsbedingungen. Die durchschnittliche Zusammensetzung von Hafer nach Souci *et al.* (2000) ist in Tab. 1.1-1 zusammengefasst.

Der Hauptinhaltsstoff des Hafers ist die Stärke. Der Stärkegehalt der Haferkerne variiert zwischen 49 und 75 % in der Trockenmasse (TM) (Bhatty, 1992). Hafersorten mit hohem Stärkegehalt weisen meist niedrige Proteingehalte auf (Paton, 1977).

Tab. 1.1-1: Durchschnittlicher Gehalt wichtiger Inhaltsstoffe in Hafer (bezogen auf Trockenmasse)

Bestandteil	Menge (%)
Ballaststoffe	9,67
Proteine	12,60
Verdauliche Kohlenhydrate	55,70
Fette	7,09
Mineralstoffe	2,85
Phytinsäure	0,04

Hafer enthält besonders in den Zellwänden weitere hochmolekulare Polysaccharide wie die sogenannten β -Glucane, die Arabinoxylane und die Cellulose, die aber im Gegensatz zur Stärke unverdaulich sind (Kühnau & Ganßmann, 1987).

Von den Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP) im Getreidekorn sind die Cellulose und die Hemicellulosen vorwiegend in der Schale lokalisiert. Die β -Glucane und Arabinoxylane (Pentosane) kommen hauptsächlich im Endosperm vor. Die Zellwand des Stärke-Endosperms enthält 70 % β -Glucan und 20 % Arabinoxylan, die Aleuron-Zellwand dagegen 26 % β -D-Glucan und 67 % Arabinoxylan. Glucomannane und Cellulose sind in nahezu gleichen Konzentrationen (2 bis 4 %) in beiden Schichten enthalten (Bhatty, 1993).

Im Hafer sind β -Glucane eine wichtige Zellwandkomponente. Der β -Glucangehalt variiert sortenabhängig zwischen 3 bis 7 % (Fulcher & Miller, 1994; Westerlund *et al.*, 1993; Wood, 1993). Neben genetischen Faktoren haben auch Umwelteinflüsse sowie der Standort oder die Vegetationsbedingungen einen großen Einfluss auf den β -Glucangehalt (Hampshire & Meyer, 2000). In deutschen Hafersorten wurde durchschnittlich 4,7 % β -Glucan gefunden, während Haferkleie bis zu über 8 % β -Glucan enthält (Ganßmann, 1998). Kapitel 1.4.4 gibt einen Überblick über die physiologische Bedeutung der β -Glucane.

Proteine kommen im Hafer in höherer Konzentration als in anderen Getreidearten vor. Der Proteingehalt des Hafers liegt bei handelsüblichen Hafersorten zwischen 10 und 17 % (bez. auf TM). Er wird vor allem durch das Stickstoffangebot in der Kornbildungsphase beeinflusst. Im Gegensatz zum Nahrungseiweiß tierischer Herkunft sind die pflanzlichen Proteine allgemein von geringerem biologischem Wert, da die acht essentiellen Aminosäuren in zu geringer Menge oder nicht im optimalen Mengenverhältnis vorkommen. Eine Ausnahme bildet jedoch das Hafereiweiß (Tab. 1.1-2).

Tab. 1.1-2: Durchschnittlicher Gehalt des Mehles verschiedener Getreidearten an essentiellen Aminosäuren, verglichen mit dem mittleren Tagesbedarf des Menschen an diesen Aminosäuren (modifiziert nach Souci *et al.*, 2000)

Aminosäure	Tagesbedarf (g)	Hafer	Gerste (g/100 g essbarem Mehlanteil)	Mais	Weizen	Roggen
Valin	0,8	0,79	0,58	0,51	0,56	0,53
Leucin	1,1	1,02	0,80	1,22	0,86	0,67
Isoleucin	0,7	0,56	0,46	0,43	0,59	0,39
Methionin + Cystein	1,1	0,55	0,40	0,33	0,48	0,33
Threonin	0,5	0,49	0,43	0,39	0,37	0,36
Phenylalanin + Tyrosin	1,1	1,15	0,98	0,84	1,11	0,70
Tryptophan	0,2	0,19	0,15	0,07	0,15	0,11
Lysin	0,8	0,55	0,38	0,29	0,35	0,40

Aus der Tabelle 1.1-2 geht hervor, dass der Verzehr von 100 g Hafermehl den Tagesbedarf an sechs der acht essentiellen Aminosäuren deckt, während Weizen- und Maismehl lediglich eine der essentiellen Aminosäuren in ausreichender Menge enthalten.

Wie alle Getreideproteine ist auch das Haferprotein ein Gemisch aus Albumin, Globulin, Gliadin und Glutein. Der hohe Glutein- und geringe Gliadinegehalt des Hafers ist auch deswegen von großem Interesse, weil Hafer in der Ernährung von Patienten mit Zöliakie, in bestimmter Menge eingesetzt werden kann (Peraaho *et al.*, 2004; Hogberg *et al.*, 2004; Storsrud *et al.*, 2003)

Der Gehalt an Lipiden im Hafer übertrifft den anderer Getreidearten. Er liegt bei Industriehafer zwischen 5 und 10 % (bez. auf TM). Die von 100 g Hafer oder Haferflocken aufgenommenen Lipide decken über ein Drittel des Tagesbedarfes an essentiellen Fettsäuren (Kühnau & Ganßmann, 1987). Wichtig ist, dass die Haferlipide ernährungsphysiologisch besonders wertvoll sind. Die mehrfach ungesättigten Fettsäuren, von denen im Hafer in erster Linie Linolsäure vorkommt, haben eine vorbeugende Wirkung gegenüber Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems (Truswell, 2002). Bei regelmäßiger Einnahme können sie den Cholesterinspiegel im Blut deutlich herabsetzen (Ho & Pal, 2004; Bemelmaus *et al.*, 2002). Haferfett weist hohe Gehalte an Linolsäure (ca. 40 % in Fettanteil) und an Ölsäure (ca. 36 % in Fettanteil) auf (Hampshire, 1998).

Im unverseifbaren Anteil des Haferöls werden u.a. Tocopherole, Tocotrienole, Carotinoide, Ester der Ferula- und Kaffeesäure und Avenasterine gefunden (Hampshire, 1993; Bryngelsson *et al.*, 2002). Ferula- und Kaffeesäure und deren Ester weisen antioxidative Wirkungen auf (Daniels & Martin, 1967, 1968; Sosulski *et al.*, 1982; Adom & Liu 2002). Hafer enthält vorwiegend α -Tocotrienol und α -Tocopherol. β -Tocotrienol und β -Tocopherol kommen nur in geringen Konzentrationen vor. Im Hafer ist das α -Tocotrienol die Hauptfraktion der Tocole. Der Gesamt-Tocopherolgehalt, der sich aus der Summe der Tocopherole und Tocotrienole errechnet, liegt zwischen 3,0 und 5,6 mg pro 100 g TM (Hampshire, 2003).

Hafer besitzt den höchsten Vitamin B₁-Gehalt aller Getreidearten. Er übertrifft den der anderen Getreidearten um etwa das Doppelte. Der Thiaminegehalt im Haferkern liegt üblicherweise zwischen 0,70 und 0,96 mg pro 100 g TM (Hampshire, 1998). Der Gehalt an Thiamin wird von der Hafersorte und den Anbauverfahren sowie vom Standort beeinflusst (Hampshire, 2004). Dabei fördert ein hoher

Stickstoffgehalt im Boden die Synthese von Thiamin in den Haferkernen (Jahn-Deesbach, 1979). Für den Menschen ist das in seiner Nahrung (vorwiegend mit Getreideprodukten) aufgenommene Thiamin als Katalysator des Stoffwechsels der Nervenzellen von großer Bedeutung. Der Wert des Hafers als Kalzium- und Eisenspender ist bereits lange bekannt (Frølich & Nyman, 1988; Hampshire, 1998). Auch bestimmte Spurenelemente wie Zink und Mangan finden sich im Hafer in höherer Konzentration als in anderen Getreidearten (Frølich & Nyman, 1988; Souci *et al.*, 2000).

Es muss beachtet werden, dass die in der Literatur beschriebenen Analysewerte für die Inhaltstoffe des Hafers je nach Standort, Sorte oder Düngung deutlich schwanken können.

1.2 Ballaststoffe

1.2.1 Definition

Für die Ballaststoffe gibt es bis heute auf Grund der Verschiedenartigkeit der Stoffe, die zu dieser Gruppe gehören, keine endgültige, einheitliche Definition. Durch diese „Konfliktsituation“ ergaben sich in der Vergangenheit verschiedene Klassifizierungsmöglichkeiten und –systeme. Es wurden als Hauptkriterien bei der Definition die Bestimmungsmethoden, die botanische Herkunft, die chemische Zusammensetzung und/oder die ernährungsphysiologischen Wirkungen berücksichtigt. Es muss bei der Definition des BS beachtet werden, dass ihre physiologische Relevanz (und nicht die chemische Struktur) der wichtigste Parameter ist.

Der Begriff „Ballaststoffe“, der um 1960 geprägt wurde, stammt aus der Tierernährung. Es wurden darunter die gesamten unverdaulichen Nahrungsbestandteile, die ausgeschieden werden, verstanden (Settegast, 1963). Lange Zeit galten deshalb die BS als überflüssige, wenn nicht gar unerwünschte Bestandteile der Ernährung. Der Begriff „Ballaststoff“ ist aus heutiger Sicht nicht korrekt. BS üben keine „Ballast“- Funktion aus, sondern sie sind als eine unverzichtbare, wichtige Nährstoffgruppe zu werten (Jacobasch & Dongowski, 2000).

Trowell (1972) bezeichnete BS (engl.: dietary fibre) als „Pflanzenbestandteile, die durch menschliche Verdauungsenzyme nicht hydrolysierbar sind“. Diese Definition wurde um die unverdaulichen tierischen und um die in Pharmaka enthaltenen Polysaccharide erweitert (Trowell, 1978). Die von Burkitt (1971) und Trowell formulierte „Ballaststoff-Hypothese“, die besagt, dass der geringe Anteil an Ballaststoffen in der westlichen Ernährung eine Ursache vieler Zivilisationskrankheiten sei, erwies sich als richtig. Man muss aber auch Effekte der anderen Wirkstoffe, die mit den BS in Vollkornprodukten oder Obst und Gemüse vergesellschaftet vorkommen, z.B. der Flavonoide oder der Carotinoide, in Betracht ziehen.

Feldheim (1990) fasste zusammen, dass unter dem Begriff „Ballaststoffe“ Nahrungsbestandteile pflanzlicher Herkunft verstanden werden, die der Verdauung durch körpereigene Enzyme widerstehen. BS gelangen meist unverändert in den Dickdarm und üben dort entweder direkt oder indirekt in Form ihrer

Fermentationsprodukte eine Reihe physiologischer Funktion aus. Zu den Ballaststoffen gehören die NSP (Cellulose, Hemicellulose, Pektin) und Lignin, aber auch resistente Stärke (RS), Oligosaccharide und Inulin werden dazu gezählt.

Die derzeit umfassendste Definition der BS wurde von der American Association of Cereal Chemists (2001) erarbeitet. Demnach sind die BS die essbaren Bestandteile von Pflanzen oder analogen Quellen, die gegenüber der Verdauung und Resorption im Dünndarm des Menschen resistent sind, jedoch im Dickdarm partiell oder vollständig durch die intestinale Mikroflora fermentiert werden. Zu ihnen gehören Poly- und Oligosaccharide sowie assoziierte pflanzliche Bestandteile.

1.2.2 Herkunft der Ballaststoffe

Beim größten Teil der mit der Nahrung aufgenommenen Ballaststoffe handelt es sich um Gerüst- und Stützsubstanzen der Pflanzenzelle, hauptsächlich Zellwandbestandteile und im Cytoplasma gelöste Stoffe (Schulze & Zunft, 1993).

Die Zellwand höherer Pflanzen ist ein dreidimensionales Netzwerk, das aus verschiedenen Kohlenhydratpolymeren und Glycoproteinen besteht und deren Feinstruktur heute noch nicht vollständig geklärt ist. Peña *et al.* (2001) beschrieben zwei verschiedene Arten der Zellwände höherer Pflanzen. Typ I, der für Blütenpflanzen charakteristisch ist, und Typ II, der vor allem in Gräsern und Getreide vorkommt. Albersheim *et al.* (1996) gehen in einer Hypothese davon aus, dass Primärzellwände höherer Pflanzen prinzipiell aus denselben Polysaccharidkomponenten aufgebaut sind. Die Unterschiede im Aufbau der Zellwände sind deswegen vor allem in der quantitativen Anwesenheit der einzelnen Aufbaukomponenten in beiden Typen gegeben. Die Typ I-Zellwand besteht aus Cellulose und Fucogalactoxyloglucanen. Dieses Cellulose/Hemicellulose Netzwerk ist in einem Netzwerk aus Pektin inkorporiert (Peña *et al.*, 2001). Die Mittelamelle ist sehr pektinreich und besitzt einen hohen Anteil an Calciumpektinat (Southgate, 1991). Bei der Art *Avena sativa* tritt die Typ II-Zellwand auf. Diese besteht ebenfalls aus Cellulosemikrofibrillen, die aber vorwiegend über Wasserstoffbrücken mit Glucuronarabinoxylanen verbunden sind. Die Zellwände der Getreidekörner enthalten nur wenig Pektin-substanzen, dafür sind die Arabinoxylane im Weizen oder die β -Glucane in Hafer und Gerste von großer Bedeutung (Peña *et al.*, 2001).

1.2.3 Chemische Struktur der Zellwandkomponenten

Die Trockenmasse der primären Zellwand besteht aus 15-30 % wasserunlöslicher Cellulose. In der sekundären Zellwand macht der Anteil der Cellulose etwa 50 % aus (McNiel *et al.*, 1984). Cellulose ist ein neutrales β -(1 \rightarrow 4)-D-Glucan. Die hochpolymeren Ketten dieser linearen Moleküle sind über Wasserstoffbrücken zusammengelagert und bilden ein Gerüst aus fibrillären Strukturen (McDougall *et al.*, 1996). Die Cellulose ist über Wasserstoffbrücken mit verschiedenen neutralen Hemicellulosepolymeren verbunden (Albersheim *et al.*, 1996). Die dadurch entstehende Quervernetzung, die ein Cellulo-

se/Hemicellulose-Netzwerk ergibt, begünstigt eine gewisse Quellung in Wasser der sonst wasserunlöslichen Cellulose.

Die Hemicellulosen kommen besonders im Endosperm bei Getreide (Hafer, Gerste), sowie in den Membranbestandteilen bei Obst und Gemüse vor. Zu den wichtigsten Hemicellulosen gehören die Xyloglucane, die aus Ketten von β -(1 \rightarrow 4)-glykosidisch verknüpften D-Glucose-Einheiten aufgebaut sind, an die α -(1 \rightarrow 4)-Bindungen D-Xylose-Einheiten gebunden sind. Sie sind zu etwa 20 % in den Zellwänden vertreten. Weiterhin kann die D-Xylose mit β -D-Galactopyranose und α -L-Fucopyranose substituiert sein (Peña *et al.*, 2001; Eastwood, 1992).

Das β -Glucan ist ein unverzweigtes Polymer, das aus (1 \rightarrow 3) und (1 \rightarrow 4) verknüpften Glucoseeinheiten aufgebaut ist (Wood *et al.*, 1994b). Für die funktionellen Eigenschaften der β -Glucane ist die Anwesenheit von β -(1 \rightarrow 3)-Bindungen wichtig. Sie sind die Ursache für die partielle Wasserlöslichkeit der β -Glucane. Näher ist dieses Thema in Kapitel 1.4.3 beschrieben.

Die Pektine in der Zellwand sind komplex aufgebaute, wasserlösliche Polysaccharide wie Homogalacturonane und Rhamnogalacturonan. Arabane, Arabinogalactane und Galactane wurden ebenfalls aus den Pektinfraktionen der höheren Pflanzen isoliert.

Die D-Galacturonsäure ist der wesentliche Baustein der Pektine. Sie ist im Homogalacturonan α -(1 \rightarrow 4)-glykosidisch verknüpft. Die freien Carboxylgruppen der Homogalacturonanmoleküle können mit Methanol verestert sein und auch über Calciumionen mit Nachbarmolekülen verknüpft sein (Voragen *et al.*, 2001). Rhamnogalacturonan I ist ein Heteropolymer, mit sich wiederholenden α -(1 \rightarrow 2)-L-Rhamnosyl- α -(1 \rightarrow 4)-D-Galacturonsäure-Disaccharid-Einheiten in der Hauptkette. An den Rhamnose-Resten können durch Substitution Arabane, Galactane und hochverzweigte Arabinogalactane vom Typ I gebunden sein (Peña *et al.*, 2001).

Die an die Mittellamelle angelagerten primären und sekundären Zellwände enthalten unterschiedliche Anteile an Cellulose, Hemicellulosen sowie Lignin. Das Lignin ist ein hochpolymeres Produkt, das aus Phenylpropan-Einheiten besteht, die hauptsächlich von Conyferalalkohol abgeleitet sind (Southgate, 1991). Lignin wird im Laufe des Alterns der Pflanze in das Cellulosegerüst der Membran eingelagert. Die gebildeten Kohlenhydrat-Lignin Komplexe können sehr stabil sein und so weitgehend dem mikrobiellen Abbau im Darm widerstehen (Flachowsky *et al.*, 1994).

Glucose dominiert insgesamt als Saccharidbaustein in BS. Daneben können besonders in den Hemicellulosen auch Arabinose, Galactose, Xylose und Fucose sowie in Pektin, Galacturonsäuren als wichtige Saccharideinheiten vorkommen. In Galacto- und Glucomannanen ist außerdem Mannose vorhanden.

In der Zellwand sind neben Kohlenhydratpolymeren auch Strukturproteine (hydroxyprolinreiche und glycinreiche Proteine sowie Arabinogalactanproteine) enthalten (Peña *et al.*, 2001).

1.3 Funktionelle Eigenschaften von Ballaststoffen mit physiologischer Relevanz

BS sind eine heterogen zusammengesetzte Gruppe von vorwiegend Poly- und Oligosacchariden. Deshalb sind ernährungsphysiologische Wirkungen allein aus ihrer chemischen Zusammensetzung nicht sicher ableitbar.

Ballaststoffe können entweder in isolierter, mehr oder weniger gereinigter Form (z.B. Pektin, Inulin, Guaran) oder innerhalb eines teilweise oder vollständig erhaltenen Zellverbandes (Obst, Gemüse, Getreide und deren Produkte) aufgenommen werden. Dadurch wird deutlich, dass die Art der Saccharideinheiten, ihre Verknüpfungswiese, eine mögliche Verzweigung und der Polymerisationsgrad eine wesentliche Bedeutung für die sich ergebenden physikochemischen und funktionellen Eigenschaften und den sich hieraus ableitenden physiologischen Wirkungen haben. Darüber hinaus ist zu beachten, dass sich bei Anwesenheit von dreidimensionalen Zellwandstrukturen weitere Effekte ergeben können. Es soll an dieser Stelle erwähnt werden, dass neben neutralen Saccharidbausteinen auch saure Bausteine (wie die Galacturonsäure in Pektin) in BS vorkommen können.

Die komplexen strukturellen Einflüsse wirken letztlich auf die funktionellen Eigenschaften der BS wie die Löslichkeit, die Viskosität, das Wasserbindungsvermögen sowie die Kationen- und Steroidbindung. Weiterhin werden die funktionellen Eigenschaften und damit auch die physiologischen Wirkungen der BS durch ihre technologische Vorbehandlung (Nyman, 2003) und die Korngröße aber auch durch die verzehrte Menge an Ballaststoffen beeinflusst.

1.3.1 Löslichkeit

Auf die Löslichkeit der BS hat die Polysaccharidstruktur einen bedeutenden Einfluss. Die Cellulose ist sehr schwer im Wasser löslich und enzymatisch nur gering abbaubar (McDougall *et al.*, 1996). Eine strukturelle Verzweigung der Polymere begünstigt allgemein ihre Löslichkeit (z.B. bei Hemicellulosen). Es muss weiterhin beachtet werden, dass bestimmte Polysaccharide im nativen Zustand (das heißt im Zellwand-Verband) teilweise oder weitgehend unlöslich sein können (z.B. Protopektine), in isolierter Form (z.B. Pektin) jedoch löslich (Dongowski & Bock, 1993). Auch mechanische und chemische Eingriffe können eine Veränderung der Löslichkeit hervorrufen (z.B. bei müllereitechnischer Aufbereitung oder Extrusion von Getreideprodukten).

1.3.2 Wasserbindungsvermögen

Die Aufnahme bzw. die Bindung von Wasser ist eine wichtige funktionelle Eigenschaft von Ballaststoffen. Sie spielt zunächst bei der Lebensmittelherstellung eine bedeutende Rolle. Aus ernährungsphysiologischer Sicht ist ein hohes bzw. erhöhtes Wasserbindungsvermögen wesentlich. So erweist sich der Anteil an gebundenem und immobilisiertem Wasser als entscheidend für die Wechselwirkungen der ballaststoffhaltigen Produkte mit verschiedenen organischen Substanzen im Gastrointesti-

naltrakt. Infolge der Bindung von Wasser wird in vielen Fällen die Viskosität der Systeme erhöht. Im Magen verändern viskose Systeme die Verweilzeit des Nahrungsbreis und wirken auch auf die Sättigung. Gequollene und viskose Produkte sind in der Lage, die Verdauung von Stärke, Proteinen und Lipiden sowie die Resorption ihrer Abbauprodukte zu beeinflussen. Das Ausmaß dieser im Dünndarm stattfindenden Effekte hängt von der Menge und Art der BS ab. Die Wasserbindung der BS beeinflusst auch die Konsistenz des Coloninhalts und wirkt auf die Verkürzung der Transitzeit.

Das Ausmaß der Wasserbindung wird durch verschiedene strukturelle Faktoren der Ballaststoffe beeinflusst: Molekulargewicht, Monosaccharidzusammensetzung und Bindungsarten zwischen den Saccharideinheiten der Polysaccharide, Lösungszustand der Polysaccharide, Vorhandensein sowie Zerstörungsgrad der gewachsenen Zellwandmatrix (Robertson *et al.*, 2000).

1.3.3 Ionen-Bindungs-Kapazität

Bestimmte BS sind in der Lage, Metallionen zu binden. Dieser Effekt ist z.B. bei Pektin gut untersucht (Dongowski, 1995; Dongowski *et al.*, 1996). Diese Fähigkeit von BS ist unterschiedlich zu bewerten. Werden toxische Schwermetalle gebunden und damit vermindert resorbiert, ist dieser Effekt erwünscht. Es wird in der Literatur auch die Möglichkeit einer Bindung von essentiellen Mineralstoffen durch BS diskutiert (Bosscher *et al.*, 2003; Nestares *et al.*, 2003; Scholz-Ahrens & Schrezenmeir, 2002). Hierdurch wäre prinzipiell deren Bioverfügbarkeit vermindert und die Gefahr der Unterversorgung begünstigt. Diese negativen Effekte scheinen jedoch ohne praktische Bedeutung zu sein. Es wurden sogar positive Effekte auf die Absorption von bestimmten Mineralien (Ca, Mg) durch lösliche Ballaststoffe (z.B. Inulin, Oligofruktose) diskutiert (Greger, 1999; Scholz-Ahrens & Schrezenmeir, 2002). Die erwünschte Erhöhung des BS-Konsums in der westlichen Diät stellt deshalb kein Risiko bezüglich einer Unterversorgung mit Mineralstoffen dar (Torre, 1991).

1.3.4 Steroidbindung

Von verschiedenen BS ist bekannt, dass sie Steroide *in vitro* und *in vivo* absorbieren können. Davon betroffen sind sowohl Gallensäuren (GS), als auch Cholesterol und Cholesterolmetabolite. So können bestimmte Ballaststoffe Wechselwirkungen mit GS eingehen, die in einer geringeren Rückresorption, einem erhöhten Transport der GS in das Colon, einer veränderten mikrobiellen Umwandlung sowie einer erhöhten faecalen Ausscheidung der GS resultieren.

Obwohl es verschiedene Theorien gibt, sind die Ursachen für die Wechselwirkung (WW) zwischen GS und BS nicht eindeutig bekannt. Chemische Bindungen zwischen bestimmten BS und GS erscheinen prinzipiell möglich, sind aber bisher nicht belegt (Bowles *et al.*, 1996). Offensichtlich spielen bei den WW Wasserstoffbrücken, hydrophobe Effekte und vor allem mit der Viskosität der BS verbundene Effekte (langsamere Verdauung der Nährstoffe, Behinderung der Resorption sowohl der Nährstoffe als auch der Steroide usw.) eine wesentliche Rolle.

1.3.5 Fermentation der Ballaststoffe und Bildung von kurzkettigen Fettsäuren

Intestinale Mikroflora und die kurzkettigen Fettsäuren

Die intestinale Mikroflora ist ein komplexes, offenes und stabiles Ökosystem, das aber durch das Substratangebot qualitativ und quantitativ beeinflusst wird. Die Darmflora setzt sich aus über 500 Baktériespezies zusammen (Salminen *et al.*, 1998). Sie befinden sich im Darmlumen, in der Mucinschicht und an der mucosalen Darmoberfläche. Der Dickdarm (10^{12} - 10^{14} Bakterien/g TM) ist im Gegensatz zum Dünndarm (10^3 – 10^7 Bakterien/g TM) wesentlich dichter besiedelt. Während im Dünndarm vorrangig fakultativ anaerobe Bakterien vorkommen, befinden sich im Dickdarm ausschließlich obligate Anaerobier. Unter letzteren dominieren Eubakterien, *Bacteroides*, Bifidobakterien, Clostridien und Fusobakterien (Finegold *et al.*, 1983).

Die kurzkettigen Fettsäuren (engl.: short-chain fatty acids, SCFA) sind die wichtigsten Fermentationsprodukte, die bei der Einwirkung der intestinalen Mikroflora auf BS entstehen. Die SCFA stellen mit über 80 % (70 bis 130 mM) den Hauptanteil der Anionen im Dickdarmlumen. Ein Teil der SCFA wird resorbiert und verstoffwechselt, der Rest wird mit den Faeces ausgeschieden. Hauptorte der Fermentation sind bei der Ratte das Caecum und beim Menschen das Colon. Vor allem die Gruppe *Bacteroides* bildet Enzyme, die Polysaccharide in kleinere Bausteine (Oligo- und Monosaccharide) zerlegen können, so dass sie von einer Vielzahl von Bakterien verwertet werden können. Viele polysaccharidabbauende Bakterien beschränken sich nicht nur auf die Verwertung eines einzigen Kohlenhydrates, sondern sie induzieren weitere Enzyme, die den Abbau anderer komplexer Kohlenhydrate ermöglichen. Die entstehenden Monosaccharide werden dann entweder durch dieselben Organismen oder durch Species der Mikroflora verwertet, die selbst nicht in der Lage sind, komplexe Kohlenhydrate zu hydrolysieren. Die Fermentationsrate und die Konzentration der Endprodukte hängen von der Struktur des angebotenen Substrates, der Zusammensetzung der intestinalen Mikroflora und ihrer Fähigkeit ab, in den Bakterienzellen Schüsselenzyme spezifischer Stoffwechselwege zu induzieren.

Bei einem Substratangebot von 15-60 g Kohlenhydrate pro Tag entstehen 150-600 mmol/l SCFA. Die Gesamtkonzentration der SCFA ist im proximalen Colon am höchsten. Durch teilweise Resorption fällt sie zum distalen Colon hin auf etwa 80 mmol/l ab. Im terminalen Colon beträgt die Konzentration der SCFA nur noch etwa 10 %. Die molaren Anteile für Acetat, Propionat und Butyrat betragen bei ballaststoffreicher Ernährung durchschnittlich 69:21:10 und bei ballaststofffreier Diät etwa 92:7:1 (Pomare *et al.*, 1985). Im Portalblut in einer Humanstudie sind die molaren Anteile der SCFA 71:21:8. Im rechten Colon liegt dieses Verhältnis bei 57:21:22, im linken Colon bei 57:22:21. Die tägliche Ausscheidung an SCFA mit den Faeces beträgt 5-10 mmol, der Hauptanteil wurde resorbiert (Cumings & Macfarlane, 1997).

Nicht alle BS ergeben bei ihrer Fermentation eine hohe Butyratbildung (Duncan *et al.*, 2004). Resistente Stärke, Oligofruktosen oder Arabinogalactan sind günstigere Substrate für die Butyratbildung als beispielsweise Pektin.

Die SCFA liegen im Dickdarm zu 90 % als Säuren vor. Sie sind schwache Elektrolyte mit pK-Werten von 4,75 (Acetat), 4,87 (Propionat) und 4,81 (Butyrat). Im proximalen Colon sind drei Transportmechanismen bekannt, der passive Transport der freien Säuren (50 %), der aktive Transport über einen SCFA/HCO₃⁻ Austauscher und die parazelluläre Diffusion der Anionen (Jacobasch & Dongowski, 2000). Die Resorption im distalen Colon erfolgt überwiegend in undissoziierter Form (Velázquez *et al.*, 1996). Der Transport der SCFA über die Venae mesenterica superior, inferior, caudalis und die Pfortader steigt *in vivo* mit ihrer Konzentration im Colon an. An isolierten Colonocyten der Ratte ist aufgrund verschiedener K_m-Werte (Acetat 0,56; Butyrat 0,13) die Affinität für Butyrat viermal größer als für Acetat. In einem *In-vivo*-Modell der Ratte wurde bestätigt, dass Acetat die Metabolisierung von Butyrat nicht unterdrückt, während Butyrat die Oxidation von Acetat hemmt (Fitch & Sharon, 1999).

1.3.6 Physiologische Effekte von SCFA

Die SCFA besitzen eine große physiologische Bedeutung. Sie sind besonders für die Funktionserhaltung der Dickdarmschleimhaut sowie für ihre kontinuierliche Regeneration wichtig.

Acetat tritt in Intestinalinhalten in der höchsten Konzentration auf. Es wird nach der Resorption in der Leber abgebaut oder zu Ketonkörper verstoffwechselt. Letztere werden im Gehirn, in der Muskulatur und in Nieren verwertet (Cummings & Macfarlane, 1997). *Propionat* wird als Fermentationsprodukt vorwiegend in den Hepatocyten verstoffwechselt (Wright *et al.*, 1990).

Da der Stoffwechsel der Dickdarmschleimhaut des Menschen auf eine kontinuierliche luminale *Butyratzufuhr* angewiesen ist, muss ein ausreichend hoher luminaler Butyratspiegel eingestellt werden. Im unteren Kryptenbereich werden die Zellen über das Blutgefäßsystem mit Glucose versorgt. Die Zellen im apikalen Bereich sind dagegen auf die Zufuhr von Endprodukten des mikrobiellen Stoffwechsels angewiesen. Hierbei spielt das Butyrat die entscheidende Rolle. Es ist das Hauptsubstrat des aeroben Stoffwechsels der Colonocyten (Bugaut & Bentejac, 1993). Als luminal zugeführtes Substrat wird es für die oxidative Energiegewinnung in Form von ATP benötigt. Etwa 70-80 % ihrer Energie beziehen die Colonocyten aus Butyrat, den übrigen Teil aus Glucose. Bei Absenkung des luminalen Butyratspiegels flachen die Krypten ab und atrophieren (Rabassa & Rogers, 1992).

Butyrat erhöht die Proliferation in normalen Epithelzellen. Im Gegensatz zu normalen Colonocyten wird die Zellteilung in neoplastischen Zellen durch Butyrat gehemmt. So vermindert das Butyrat *in vitro* die Proliferation in apikalen Kryptenabschnitt. In Konzentration um 10 mM ist Butyrat in der Lage, die durch Desoxycholat ausgelöste Hyperproliferation zu unterdrücken (Scheppach *et al.*, 1992a, 1995).

Butyrat ist außerdem der einzig bekannte Metabolit, der in die Regulation des Zellzyklus eingreifen kann. Es arretiert Carcinomzellen in der G1-Phase. An Caco-2- aber auch an HT-29-Zelllinien konnte experimentell nachgewiesen werden, dass das Butyrat konzentrationsabhängig die Apoptose fördert (Avivi-Green *et al.*, 2002; Archer *et al.*, 1998).

1.3.7 Steroide, Ballaststoffe und Lipidmetabolismus

1.3.7.1 Gallensäuren

Gallensäuren sind als Bestandteile der Gallenflüssigkeit bei der Micellenbildung zur Fettverdauung im Dünndarm beteiligt. Normalerweise werden die GS nach dem Zerfall der Micellen wieder weitgehend resorbiert und über den enterohepatischen Kreislauf zur Leber transportiert.

Die GS gehören zwei verschiedenen „Familien“ an, der Cholsäure-Familie und der Chenodesoxycholsäure-Familie. Während Cholsäure (C) drei Hydroxylgruppen in α -Stellung an den C-Atomen 3, 7 und 12 des Steroidgerüsts aufweist, besitzt die Chenodesoxycholsäure (CDC) nur zwei Hydroxylgruppen. Diese befinden sich an den C-Atomen 3 und 7 (Abb. 1.3-2).

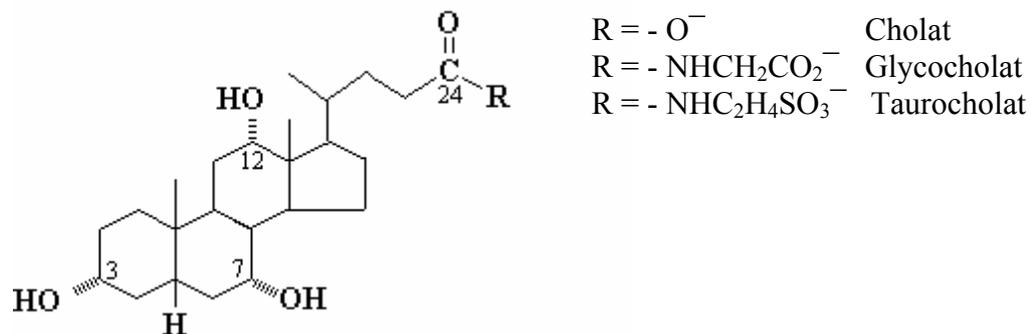


Abb. 1.3-2: Grundstruktur der Gallensäuren

In Tab. 1.3-2 ist die Anordnung der Hydroxyl- und Keto-Gruppen am Steroidgerüst für die wichtigsten GS zusammengestellt, die in den Faeces des Menschen und der Ratte auftreten.

Tab. 1.3-2: Wichtige Gallensäuren in den Faeces des Menschen und der Ratte

Abkürzung	Position der OH/Keto-Gruppen
-----------	------------------------------

Cholsäure-Familie

Cholsäure	C	3 α OH	7 α OH	12 α OH
Desoxycholsäure*	DC	3 α OH		12 α OH
7-Ketodesoxycholsäure	KDC	3 α OH	7O	12 α OH
3 β ,12 α -Dihydroxycholsäure*	$\beta\alpha$	3 β OH		12 α OH
12-Ketolithocholsäure*	KLC	3 α OH		12O

Chenodesoxycholsäure-Familie

Chenodesoxycholsäure	CDC	3 α OH	7 α OH	
Lithocholsäure*	LC	3 α OH		
Ursodesoxycholsäure	UDC	3 α OH	7 β OH	
α -Muricholsäure	α MC	3 α OH	6 β OH	7 α OH
β -Muricholsäure	β MC	3 α OH	6 β OH	7 β OH
Hyodesoxycholsäure*	HDC	3 α OH	6 α OH	

* = sekundäre GS

Die GS werden in den Dünndarm vor allem in konjugierter Form sezerniert. Hierbei ist zu beachten, dass beim Menschen die GS vorwiegend mit der Aminosäure Glycin und bei der Ratte vorwiegend mit Taurin über Säureamidbindungen konjugiert sind. Daneben gibt es in geringen Mengen noch eine Reihe weiterer natürlicher GS-Derivate. Durch die intestinale Mikroflora werden die GS im Dickdarm zunächst dekonjugiert ("freie GS") und dann in Abhängigkeit von den anwesenden Enzymsystemen der Bakterien und den Milieubedingungen weiter um- bzw. abgebaut.

Dabei werden durch Dehydroxylierung am C-Atom 7 des Steroidgerüsts die "primären GS" in die "sekundären GS" durch Katalyse der 7 α -Dehydroxylase umgewandelt. Intestinale Bakterien mit 7 α -Dehydroxylase-Aktivitäten sind beispielweise Eubakterien und Clostridien (Baron & Hylemon, 2000). Durch die bei der Fermentation von BS gebildeten SCFA wird der pH-Wert in Caecum- und Coloninhalten gesenkt. Dadurch erfolgt eine partielle Hemmung der 7 α -Dehydroxylase. Die Enzyme der Mikroflora sind auch in der Lage, Hydroxylgruppen am Steroidgerüst zu Ketogruppen oder α -Hydroxylgruppen in β -Hydroxylgruppen zu oxidieren (Baron & Hylemon, 2000). Das aus 4 Ringen bestehende Steroidgrundgerüst wird jedoch im Intestinaltrakt nicht enzymatisch abgebaut. Es wird entweder ausgeschieden oder resorbiert und dann in den Hepatocyten in primäre GS umgewandelt.

1.3.7.2 Physiologische Relevanz der Gallensäuren

Eine Ursache für die Senkung von Serumcholesterol bei BS-reicher Diät ist offensichtlich die höhere Ausscheidung von Gallensäuren. Dieser Effekt wurde besonders bei Gabe von viskositätserhöhenden Ballaststoffen wie β -Glucan, Psyllium oder Pektin beobachtet (Judd & Truswell, 1981; Huth *et al.*, 2000; Dongowski, 1995, 1997; Seal & Mathers, 2001; Romero *et al.*, 2002). Durch die Erhöhung der Viskosität des Nahrungsbreis und durch die Störung der GS-Rückresorption gelangen erhöhte Mengen an GS ins Caecum und ins Colon und werden schließlich in höherem Maße ausgeschieden (Hoffmann, 1994; Dongowski *et al.*, 2003). Die fehlende Menge an GS muss durch Neusynthese in der Leber aus dem im Blut befindlichen Cholesterol erfolgen. Lia *et al.* (1995) zeigten an Ileostomie-Patienten, dass hochmolekulare β -Glucane für die GS-Ausscheidung verantwortlich sind.

1.3.7.3 Neutrale Sterole

Eine zweite Steroidgruppe, die im Intestinaltrakt von Säugetieren und Menschen auftritt, sind die neutralen Sterole (NS). Das wichtigste NS ist Cholesterol. Dieses wird vor allem mit tierischen Lebensmitteln aufgenommen. Cholesterol kann offensichtlich ähnlich den GS mit bestimmten BS (im Dünndarm) in Wechselwirkung treten. Nicht resorbiertes Cholesterol gelangt wie die GS in den Dickdarm, wo es ebenfalls teilweise mikrobiell in verschiedene Metabolite umgewandelt und schließlich in erhöhter Menge ausgeschieden wird. Zu diesen Metaboliten gehören Coprostanol, Cholestanon und Coprostanon. Eine erhöhte Ausscheidungsrate von Cholesterol bei BS-reicher Diät ist ein physiologisch interessanter Effekt.

Es wurde beobachtet, dass bei Patienten mit Adenomen und Colon-Krebs erhöhte faecale Cholesterolkonzentrationen auftraten (Roy *et al.*, 1999). Eine Supplementierung der Diäten mit 1 % Cholesterol und 0,15 % DC resultierte bei Azoxymethan-behandelten Ratten neben einer erhöhten Steroidausscheidung auch in einer verstärkten Zellproliferation im Colon (Hori *et al.*, 1998). Detaillierte Untersuchungen an gesunden Probanden liegen zu diesem Problem bisher nicht vor.

Es soll hier nur erwähnt werden, dass eine weitere Gruppe von NS die Phytosterole sind. Zu diesen mit der pflanzlichen Nahrung aufgenommenen pflanzlichen Sterolen gehören β -Sitosterol und Stigmasterol. In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass Phytosterole als „Gegenspieler“ des Cholesterols ebenfalls zur Senkung der Plasmalipide befähigt sind (Moghadasian, 2000; Kerckhoffs *et al.*, 2002; Moreau *et al.*, 2002; Trautwein *et al.*, 2002).

1.3.7.4 Steroide und Coloncancerin

Es ist noch nicht eindeutig geklärt, ob und in welcher Weise Steroide in die Cancerogenese des Dickdarms involviert sind (Roy *et al.*, 1999). Die Berichte in der Literatur sind widersprüchlich (Hofstad *et al.*, 1998). Speziell bestimmte sekundäre GS werden als cytotoxisch und als Promotoren in der Colon-Cancerogenese angesehen (Owen, 1997). GS können dann cytotoxisch sein, wenn sie in unnormal hohen Konzentrationen auftreten. Diese Cytotoxizität wird stark von der Struktur der GS beeinflusst. Hoffmann (1994) teilte mit, dass die Cytotoxizität mit der Hydrophobizität der GS steigt. So zeigten beispielsweise Lithocholsäure und Desoxycholsäure aber auch Chenodesoxycholsäure eine höhere Hydrophobizität als Cholsäure. Durch ihre Detergenz-Eigenschaften können GS prinzipiell die Mucinschutzschicht oder die Membranen der Epithelzellen in der Colonmucosa schädigen. Es hat sich jedoch gezeigt, dass GS im Faeceswasser eine größere Bedeutung für ihre Toxizität gegenüber Epithelzellen haben als die Gesamt-GS-Konzentration (Robertson, 1993). Besonders LC und DC erwiesen sich im Ames-Test und anderen *In-vitro*-Untersuchungen bzw. in Tiermodellen als cancerogen (Salter *et al.*, 1996). Höhere GS-Konzentrationen im Lumen können die zelluläre Proteinkinase C aktivieren, die wiederum die Zellproliferation stimuliert. Im Vergleich mit einer kombinierten DC-Butyrat-

Behandlung resultierte die Inkubation von Colon-Biopsien des Menschen nur mit DC in einem höheren Crypt-Labeling-Index (Bartram *et al.*, 1994). McMillan *et al.* (2000) fanden raus, dass DC und CDC in Konzentrationen, die im Colon vorkommen, eine geringe Erhöhung der Zellproliferation und eine verminderte spontane Apoptose in Adenomzellen bewirken können. GS können die Induktion der Apoptose durch Butyrat zwar hemmen, aber dieser Effekt wird durch erhöhte Butyratkonzentrationen aufgehoben.

1.3.8 Physiologische Wirkungen der Ballaststoffe

Ballaststoffe verschiedener Herkunft, Präparation und Verarbeitung besitzen unterschiedliche physikalische und chemische Eigenschaften, die sich im Verlaufe der Magen-Darm-Passage ändern können. Daraus resultiert die Vielfalt ihrer physiologischen Effekte mit zahlreichen metabolischen Konsequenzen (Schulze & Zunft, 1993).

BS nehmen direkt und/oder indirekt Einfluss auf den Verdauungstrakt und weitere Organe, sowie auf den Kohlenhydrat-, Lipid- und Mineral-Stoffwechsel (Jacobasch & Dongowski, 2000; Richter *et al.*, 2004). Dadurch zeigen sie eine Reihe von vorteilhaften physiologischen Wirkungen. Sie können im Dünndarm beispielsweise mit Steroiden und Arzneistoffen in Wechselwirkung treten und die Resorption von Nährstoffen beeinflussen (Dongowski, 1995; Kritchevsky & Bonfield, 1995; Dongowski *et al.*, 1997; McCleary & Prosky, 2001).

Kreislaufkrankungen stellen in den industrialisierten Ländern Nordamerikas und Europas eine der häufigsten Todesursachen dar (Pereira, 2004). Grundlage dieser Erkrankungen sind atherosklerotische Veränderungen der Blutgefäße. Diese entstehen umso häufiger und schneller, je höher der Serumspiegel an Lipiden, insbesondere an LDL-Cholesterol, ist. Diese hypocholesterinämischen Effekte haben zahlreiche Autoren in Ernährungsstudien mit hypercholesterinämischen Probanden (Anderson *et al.*, 1984; Van Horn *et al.*, 1986; Anderson & Bridges, 1993; Dongowski *et al.*, 2003; Zunft *et al.*, 2003) und am Tier (Chang *et al.*, 2002, Hicks *et al.*, 1995) beschrieben. Auch an Gesunden zeigten Haferballaststoffe nach ihrer Aufnahme Veränderungen vor allem bei Cholesterolparametern sowie bei den Glucose- und Insulinspiegeln (Cara *et al.*, 1992; Dubois *et al.*, 1995).

Im Dickdarm regulieren BS die Wasserbindung und die Transitzeit (Verweilzeit). Vor allem sind sie das wichtigste Substrat für die intestinale Mikroflora. Dabei entstehen als Endprodukte der bakteriellen Fermentation die SCFA (siehe Kapitel 1.3.7). Ein hoher luminaler Butyratspiegel ist durch geeignete Präbiotika einstellbar. Mit Ausnahme weniger Untersuchungen (Fuchs *et al.*, 1999) wurde in der überwiegenden Anzahl der experimentellen und epidemiologischen Studien ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten BS-Konsum, einschließlich von Getreideprodukten, und einer positiven Wirkung auf chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Fernández-Beñares *et al.*, 1999; Jacobasch *et al.*, 1999) und auf die colorectale Cancerogenese (Jansen *et al.*, 1999; Bingham *et al.*, 2003) festgestellt.

1.4 β -Glucan in Hafer

1.4.1 Definition

Die β -Glucane sind Polysaccharide, die ubiquitär in den Zellwänden von Gräsern und damit auch der meisten Getreidearten vorkommen. β -Glucan ist ein Polymer, das aus unverzweigten Cellodextrinblöcken von (1 \rightarrow 4)- β -D-Glucosyleinheiten besteht, die durch (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucosyleinheiten unterbrochen sind. Die Anwesenheit dieser (1 \rightarrow 3)-Bindungen verursacht "Knicke" im Aufbau der Polymerkette. Diese Unregelmäßigkeiten in der sonst linearen Struktur sind die Ursache für die partielle oder weitgehende Wasserlöslichkeit und die Viskosität der β -Glucane (Rabe, 1995; Wood *et al.*, 1994b). Somit handelt es sich beim β -Glucan um ein gemischt verknüpftes (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-Glucan. In der mit β -Glucan strukturell verwandten, in Wasser unlöslichen Cellulose sind demgegenüber alle Glucoseeinheiten β -(1 \rightarrow 4)-glycosidisch verknüpft.

Der β -Glucangehalt im Haferkorn variiert zwischen 3,5 und 5,6 % (bez. auf TM) (Hampshire & Meyer, 2000; Hampshire, 2004). Rabe (1995) hat als Durchschnittswert für verschiedene Hafersorten einen Gehalt von 3,77 % ermittelt. Den Gehalt an β -Glucan in verschiedenen Getreidearten zeigt Tab. 1.4-1.

Tab. 1.4-1: β -Glucangehalt verschiedener Getreidearten

Getreideart	Glucangehalt (%)
Hafer (verschiedene Sorten)	2,4-5,0
Haferkerne ungedarrt, gedarrt	4,6
Roggen (verschiedene Sorten)	0,6-1,9
Sommergerste	5,6
Wintergerste	4
Nacktgerste	3,4
Winterweizen (verschiedene Sorten)	0,4-0,5
Sommerweizen (verschiedene Sorten)	0,03-0,65
Durumweizen	0,13-0,46
Mais	0,03

1.4.2 Lokalisation der β -Glucane in der Karyopse

β -Glucane kommen im Endosperm und in der Aleuronschicht verschiedener Getreidearten vor (Wood, 1986). Hafersorten mit dicken Zellwänden haben allgemein höhere β -Glucangehalte. Den höchsten β -Glucangehalt weisen neben der Aleuronschicht vor allem die unmittelbar anschließende Subaleuronschicht (äußeres Endosperm) auf. Bei Hafersorten mit sehr geringem β -Glucangehalt ist die höchste Menge im direkt an den Keimling anschließenden Endosperm zu finden (Fulcher & Miller, 1993; Anderson *et al.*, 1990). Bei β -glucanreichen Hafersorten wurden keine spezifischen Bereiche mit erhöhter β -Glucankonzentration festgestellt. Die Endospermzellwände sind in der Subaleuronschicht dicker als im inneren des Endosperms. Das führt zu einer β -Glucananreicherung im Subaleuron (Wood, 1991).

Die Lokalisation der β -Glucane in der Karyopse ist bei Hafer und Gerste in der Regel unterschiedlich. Bei Gerste sind im Gegensatz zum Hafer die β -Glucane über das gesamte Korn verteilt. Die höchsten β -Glucanwerte treten bei Gerste im Inneren des Kornes auf (Fulcher & Miller, 1993; Burrows, 1986).

Die Verteilungsmuster des β -Glucans sind auch in β -glucanreichen und -armen Hafersorten unterschiedlich. Miller & Fulcher (1993) begründen die abweichenden Verteilungsmuster bei Genotypen mit hohen β -Glucangehalten mit der Zellgröße. So können beispielsweise die vielen kleinen Zellen mit etwas dickeren Endospermzellwänden der Sorte „Marion“ viel β -Glucan einlagern. Henry (1987) stellte fest, dass die β -Glucananteile im Endosperm bei Hafer 47 %, bei Weizen 48 %, bei Gerste 99 % und bei Roggen 71 % betragen.

1.4.3 Löslichkeit und Viskosität des β -Glucans

Es ist schwierig, die β -Glucane vollständig aus dem Getreidematerial zu extrahieren. Die Vorbehandlung des Getreides (z.B. Trocknung, Erhitzen, Zerkleinern/Partikelgröße) sowie die Korneigenschaften und der Zellwandaufbau haben einen starken Einfluss auf die Löslichkeit der β -Glucane (Wood, 1993). Es konnten bis zu 50 % der β -Glucane aus Gerste extrahiert werden, ohne die Zellwandstruktur zu zerstören (Forrest & Wainwright, 1977). Weiterhin beeinflusst das Extraktionsverfahren den Anteil an löslichem β -Glucan. Die Löslichkeit der β -Glucane ist im Hafer höher als in anderem Getreide (Wood *et al.*, 1991a). Bei alkalischer Extraktion werden bis zu 20 % der β -Glucane gewonnen. Bhatta (1987) erhielt bei einer Säureextraktion nur etwa 33 % der β -Glucane in gelöster Form. Woodward *et al.* (1983) machten das unregelmäßige und verstärkte Auftreten von β -(1 \rightarrow 3)-Bindungen für die unterschiedliche Löslichkeit der β -Glucane bei 40 und 65 °C in Wasser verantwortlich. Einen weiteren Einfluss auf die Löslichkeit der β -Glucane können auch Bindungen mit Arabinoxylan (Ashluwalia *et al.*, 1984) oder Protein-Kohlenhydrat-Bindungen besitzen.

Dawkins & Nnanna (1995) zeigten, dass β -Glucanextrakte bei 0 °C die höchste Viskosität aufweisen, die bei Temperaturerhöhung auf 100 °C stark abnahm. Nach dem Abkühlen wurde jedoch die ursprüngliche Viskosität wieder erlangt. Die Viskosität der β -Glucanlösungen war bei Raumtemperatur 60 h lang stabil. Schwarz & Lee (1995) untersuchten gereinigte β -Glucanpräparate mit hohen scheinbaren Viskositäten, die vom Molekulargewicht und der Konfiguration in den Lösungen beeinflusst wurden. Alle β -Glucane zeigten ein pseudoplastisches Fließverhalten. Auch Doublier & Wood (1995) fanden bei rheologischen Untersuchungen heraus, dass die Viskosität mit zunehmender Scherrate bei β -Glucan abnimmt. Bei höheren Konzentrationen zeigte sich hier ein verstärktes pseudoplastisches Verhalten.

1.4.4 Ernährungsphysiologische Wirkungen von β -Glucan

Die physiologische Wirkung der β -Glucane des Hafers bezieht sich vor allem auf den Cholesterolfstoffwechsel, den Blutzuckerspiegel, den Blutdruck und den GI-Trakt. Die cholesterolsenkende

Wirkung von Haferglucan wurde bei Patienten mit Hypercholesterinämie (Maki *et al.*, 2003a; Gerhardt & Gallo, 1998; Berg *et al.*, 2003; Kerckhoffs *et al.*, 2003), sowie bei Kindern und bei Adoleszenten (Maki *et al.*, 2003b) belegt. Dabei wurde beobachtet, dass insbesondere die LDL-Cholesterolfraktion im Serum gesenkt wird (Maki *et al.*, 2003a,b; Kerckhoffs *et al.*, 2003). Das HDL-Cholesterol wurde kaum beeinflusst (Maki *et al.*, 2003a; Gerhardt & Gallo, 1998; Kerckhoffs *et al.*, 2003). Auch Bourdon *et al.* (1999) und Dubois *et al.* (1993) bestätigten bei gesunden Personen die postprandial cholesterolsenkende Wirkung von β -Glucan.

Ein Zusatz von 30 g Gerstenkleiemehl/d zur Diät bewirkte bei Hypercholesterinämie-Probanden nach 30 Tagen eine signifikante Abnahme des Gesamt-, LDL- und HDL-Cholesterols (Lupton *et al.*, 1994). Insgesamt zeigen die Befunde, dass sowohl die Konzentration als auch das Molekulargewicht der β -Glucane den Serumcholesterol-senkenden Effekt beeinflussen (Danielson *et al.*, 1997).

Mehrere Autoren haben die Cholesterolsenkende Wirkung des B-Glucans in Tierversuchen bestätigt. De Schrijver *et al.* (1992) verabreichten Ratten nicht erhitzte Haferkleie oder gebackene Haferkleie in der Diät. Nach 28 Tagen wurden eine Abnahme der Cholesterolkonzentration im Plasma sowie eine erhöhte GS-Exkretion gefunden.

Lupton *et al.* (1994) haben den Cholesterolsenkend Effekt der Hafer- und Weizenkleie auf die Serum- und Leberlipide bei Ratten untersucht. Dabei fanden sie heraus, dass beim Einsatz von 6 % Haferkleie die geringsten Konzentrationen an Serum- und Lebercholesterol erreicht wurden; parallel dazu traten die tiefsten pH-Werte im Caecum und Colon auf und die Bakterienmasse nahm zu. Mit endo- β -D-Glucanase behandelte Haferkleie bewirkte an hypercholesterinämischen Ratten infolge der verminderten Viskosität eine geringere Abnahme der Serum- und Lebertriglyceride und des Cholesterols in der Leber (Tietyen *et al.*, 1995).

Inglett & Newman (1994) präparierten aus Hafer durch Behandlung mit α -Amylase Amylodextrine mit β -Glucangehalten bis zu 10 %. Ihre Fütterung senkte bei Küken das Gesamtcholesterol sowie den LDL-Cholesterolspiegel, während das HDL-Cholesterol anstieg.

Die Erhöhung des β -Glucangehalts auf 7,7 % in Pasta aus Durumweizen durch Zugabe von Gerste bewirkte sowohl einen niedrigen glykämischen Index als auch eine Insulinresponse bei gesunden Erwachsenen (Yokoyama *et al.*, 1997). Tappy *et al.* (1996) gelang eine 50%ige Abnahme der glykämischen Response in Nicht-Insulin-Abhängigen Diabetiker bei Verabreichung von Frühstücks-Cerealien, die ca. 5 g β -Glucan enthielten.

In verschiedenen Studien wurde keine eindeutige Wirkung von Hafer- oder Gerstenprodukten auf die Serumlipide gefunden. So konnten Beer *et al.* (1995) keine signifikanten Unterschiede im Gesamt- und LDL-Cholesterol sowie in den Triglyceriden im Blut von jungen Männern nach Gabe von 9 g β -Glucan/d im Zeitraum von 14 Tagen ermitteln. Lediglich das HDL-Cholesterol war signifikant erhöht. Auch Törrönen *et al.* (1992) fanden keinen Einfluss eines Haferkleie-Konzentrates bei Gabe in Form von Brot auf die Serumlipide an leicht hyperlipidämischen Probanden. Bei dreiwöchiger Gabe

von 25 g Haferkleie an 10 gesunden Männern stellten Stephen *et al.* (1997) keine Zunahme der Faecesgewichte, sowie keine Fermentation der Kleie und keine Änderung der Transitzeit bzw. in den Serumlipiden fest.

Als mögliche Ursachen wurden ein enzymatischer Abbau und eine schlechte Löslichkeit der β -Glucane und eine damit einhergehende geringe Viskosität diskutiert. Es muss aber auch bedacht werden, dass β -Glucane nicht nur unter technologischen Einflüssen partiell depolymerisiert werden können, sondern dass sie auch bereits im oberen Gastrointestinaltrakt unter Abnahme ihrer Viskosität teilweise abgebaut werden können (Sundberg *et al.*, 1996; Robertson *et al.*, 1997a).

McIntosh *et al.* (1991) fassten zusammen, dass als Haupteffekte für die Cholesterolsenkende Wirkung die Hemmung der Verdauung und Resorption von Nährstoffen infolge der erhöhten Viskosität im Dünndarm, die verstärkte Ausscheidung von GS und das veränderte Verhältnis von primären zu sekundären GS, die erhöhte mikrobielle Fermentation im Colon und damit die verstärkte Bildung von Propionat, das die Cholesterolsynthese hemmt, sowie die Beeinflussung der Insulin- und Glucagonsekretion zu diskutieren sind.

1.5 Resistente Stärke

1.5.1 Definition

Schon zu Beginn der 80er Jahre wurde beobachtet, dass ein Teil der aufgenommenen Stärke bei gesunden Personen nicht vollständig verdaut wird (Anderson, 1981). Während der Entwicklung einer neuen Methode zur BS-Bestimmung stellten Englyst *et al.* (1982) fest, dass diese α -Amylase-resistente Stärke in der Fraktion der Nicht-Stärke-Polysaccharide auftritt. Den unvollständigen enzymatischen Abbau bestimmter Stärke bestätigten Englyst & Cummings (1985, 1986) durch Untersuchungen an Ileostomiepatienten und prägten den Begriff „resistente Stärke“. Als RS wird die Summe von Stärke und Stärkeprodukten definiert, die nicht im Dünndarm von gesunden Personen gespalten und resorbiert wird (Asp, 1992).

Diese als RS bezeichnete Stärkeform tritt in verschiedenen Typen auf (Asp *et al.*, 1996; Brouns *et al.*, 2002): Typ 1 ist physikalisch für Verdauungsenzyme nicht zugängliche Stärke (Einschluss in Zellverbände; Stärke in Körnern und Samen). Typ 2 ist native granuläre Stärke mit hoher Dichte und partieller Kristallinität (z.B. in rohen Kartoffeln und grünen Bananen). Der Typ 3 ist die physiologisch wichtigste RS-Form. Es handelt sich hierbei um rekristallisierte (retrogradierte) Stärken, die beim Abkühlen von gekochten (verkleisterten) Stärken entstehen (z.B. gekühlte Kartoffeln und Leguminosen, gelagertes Brot, Cornflakes). Butyrogene RS 3 Produkte wurden auch aus Stärken von Gerste, Roggen, Erbsen oder Banane hergestellt (Rössler *et al.*, 2002; Lehmann *et al.*, 2002, 2003). Verdauungsresistente, chemisch oder thermisch modifizierte Stärken (z.B. Stärkederivate) werden dem Typ 4 zugeordnet.

Verschiedene RS-Produkte sind handelsüblich. Hierzu gehören Novelose[®] 240 und 330 (National Starch & Chemical), CrystaLean[®] (Opta Food Ingredients, Inc., Bedford, MA), und Starmax[®] (Sigma Pharmaceuticals, Croydon).

1.5.2 Generierung von RS durch Extrusion und Autoklavieren

Neben den herkömmlichen Verfahren der Lebensmittelzubereitung hat die Extrusionstechnik in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Sie wird beispielsweise bei der Herstellung von Frühstücks-Cerealien und Snacks eingesetzt (Kokini *et al.*, 1992; Østergård *et al.*, 1989, Meuser *et al.*, 1992). In Abhängigkeit von den technologischen Parametern erfolgen bei der Extrusion von Getreideprodukten intensive Veränderungen in ihren Komponenten. Die Stärke bzw. das stärkereiche Prämix bilden eine Schmelze. Die granuläre Struktur geht in eine amorphe Beschaffenheit über und die Makromoleküle werden partiell depolymerisiert. Beim Austritt aus der Düse erfolgt eine Expansion und Abkühlung, wobei die Stärkematrix in einen glasartigen oder gummiartigen amorphen Zustand bis zur Kristallisation übergehen kann (Colonna *et al.*, 1989; Harper, 1992). Weiterhin kommt es während der Extrusion zu Veränderungen in der Löslichkeit der BS und in den funktionellen Eigenschaften der Produkte (Ralet *et al.*, 1990; Vasanthan *et al.*, 2002).

In der Vergangenheit galt die Extrusion allgemein nicht als ein geeignetes Verfahren zur Herstellung von RS. Deshalb werden in der Literatur auch widersprüchliche Ergebnisse über die Möglichkeit und das Ausmaß einer Bildung von RS mittels Extrusion berichtet. So fanden Berghofer & Horn (1994) keine signifikante Erhöhung im RS-Gehalt bei der Heißextrusion (bei ca. 170 °C). Bei Untersuchungen zur Wiederfindung von zugesetzter resistenter Stärke (Berghofer & Horn, 1994; Wepner *et al.*, 1997; Sängler *et al.*, 1997) wurde sogar eine Abnahme des Anteils an RS ermittelt. Nach der Extrusion von Reis- und Amaranthstärke wurden geringere RS-Gehalte erhalten als nach dem Rösten, Druckkochen oder Trommeltrocknen (Szczo drak & Pomeranz, 1991; Parchure & Kulkarne, 1997). Andere Untersuchungen zeigten demgegenüber, dass unter bestimmten Bedingungen auch bei der Extrusion RS generiert werden kann. Unlu & Faller (1998) belegten, dass die Extrusion von Maismehl mit Zusatz von amylosereicher Maisstärke (bis zu 30 %) und Zitronensäure (bis zu 7,5 %) zu einer mehr als sechsfach erhöhten Bildung an RS führt.

Untersuchungen zur Bildung von RS durch Extrusion von Gerstenschrot mit erhöhten Gehalten an Amylose (34 % in der Stärke) und an β -Glucan (6,5 %, bez. auf TM im Schrot) zeigten, dass es möglich ist, RS unter Erhalt der makromolekularen Eigenschaften der β -Glucane zu generieren (Gebhardt *et al.*, 1998). Die Extrusion sollte unter möglichst geringer Scherung (begrenzten Energieeintrag) erfolgen, um die Depolymerisation der β -Glucane zu minimieren und die Viskositätseigenschaften der β -Glucane weitgehend zu erhalten. Bei erhöhtem Gehalt an Amylose wurde ein höherer Gehalt an RS gebildet. Die Extrudate enthielten 5 bis 12 % RS. Unlu & Faller (1998) fanden einen indirekten Zusammenhang zwischen der Bildung von RS und der Drehzahl. Nach der Entspannung beim Verlassen

des Extruders erfolgen im Getreidematerial Retrogradations- und Rekristallisationsvorgänge, die durch eine Kühlung die RS-Bildung in den Extrudaten verbesserten (Huth *et al.*, 2000).

Die strukturelle Beschaffenheit der bei der Extrusion entstehenden resistenten Stärke ist bisher noch ungeklärt. In der Literatur sind Untersuchungen zur Generierung von RS in Hafer und Haferprodukten mittels Extrusion nicht beschrieben.

Ein weiteres Verfahren zur Herstellung von RS ist das Autoklavieren. Als Ursache für den erhöhten Gehalt an RS beim Autoklavieren wird das Auftreten kurzer Ketten als Resultat der Entzweigung der Amylopektinkomponente angesehen, die eine Rekristallisation begünstigen. Der Prozess läuft im Gegensatz zur Extrusion mit weitaus höheren Wassergehalten ab (Miles *et al.*, 1985).

1.6 Functional Foods

Als "Functional Foods" werden solche Lebensmittel bezeichnet, die aufgrund besonderer Inhaltsstoffe mehr als nur den reinen Nähr- und Geschmackswert aufweisen (Rambeck & Weber, 2001; Trautwein, 2001; Zunft, 2001). Dazu zählen Prä- und Probiotika. Probiotisch werden die „lebenden mikrobiellen Lebensmittelinhaltsstoffe“ bezeichnet, die eine positive Wirkung auf die Gesundheit haben. Bisher wurden als Bakterienstämme mit gesundheitsfördernden Eigenschaften z.B. Lactobacillen, Bifidobakterien sowie Eubakterien in der Lebensmittelindustrie und therapeutisch eingesetzt (De Vrese, 1997). Als Präbiotika werden „nicht verdauliche Nahrungsmittelbestandteile, die den Wirt durch selektive Stimulierung von Wachstum und/oder der Aktivität einzelner oder einer begrenzten Anzahl von Kolonbakterien günstig beeinflussen und damit das Potenzial zur Verbesserung der Gesundheit des Wirtes nachweisen“ bezeichnet (Gibson & Roberfroid, 1995). Dafür werden vorwiegend Fructooligosaccharide, Inulin und resistente Stärke verwendet. Eine Kombination aus Prä- und Probiotika stellen sogenannte Symbiotika dar.

Für den Markt an funktionellen Lebensmitteln (Salminen *et al.*, 1998) ergibt sich ein Bedarf an Verfahren für die Herstellung von Produkten mit hohen oder erhöhten Gehalten an resistenter Stärke und an β -Glucanen sowie allgemein eine erhöhte tägliche Aufnahme an Ballaststoffen. Hafer ist ein vorteilhaftes Ausgangsmaterial für solche Entwicklungen (Gebhardt *et al.*, 2004).

Aufgabenstellung

Die vorliegende Arbeit zielte darauf ab, die ernährungsphysiologischen Wirkungen von ballaststoffreichen Haferprodukten zu ermitteln. Hafer (*Avena sativa* L.) ist zwar in der Ernährung des Menschen gut akzeptiert, spielt jedoch in Mitteleuropa als Lebensmittel keine große Rolle. Dabei weist Hafer unter den Getreidearten eine besonders vorteilhafte Zusammensetzung auf (z.B. Ballaststoffe, Fettsäuren sowie wichtige Vitamine). Ballaststoffe des Hafers sind die β -Glucane und Arabinoxylane. β -Glucan besitzt aufgrund seiner hohen Viskosität in wässrigen Systemen als löslicher BS eine ernährungsphysiologische Relevanz. In den USA wurde bereits 1997 ein Health Claim für den Einsatz von 3 g β -Glucan/d zur Verminderung von Gesamt- und LDL-Cholesterol erteilt. Resistente Stärken kommen in Haferprodukten nur in geringem Maße vor.

Deshalb sollten im Rahmen dieser Arbeit direkt verzehrfähige, Ballaststoff-angereicherte Haferprodukte (vorwiegend Extrudate) mit hohen Gehalten an β -Glucanen und resistenter Stärke hergestellt, analysiert und nachfolgend auf relevante ernährungsphysiologische Wirkungen *in vitro* und *in vivo* geprüft werden. Als Basis für die Produkte wurden Hafermehl und Haferkleie eingesetzt.

Zunächst sollte in technologischen Untersuchungen getestet werden, ob es möglich ist, mittels Extrusion resistente Stärke in Haferprodukten zu bilden. Die Extrusionsbedingungen waren dabei so zu optimieren, dass wertvolle Haferinhaltsstoffe möglichst nicht geschädigt werden. Vergleichsweise sollte das Autoklavieren als Verfahren zur Bildung von resistenter Stärke eingesetzt werden. Weiterhin war vorgesehen, Gemische aus Haferprodukten und kommerziellen Resistente-Stärke-Präparaten gemeinsam zu extrudieren, um mit resistenter Stärke angereicherte Produkte für die physiologischen Untersuchungen herzustellen.

Sodann sollten die gewonnenen Haferprodukte im Hinblick auf solche Eigenschaften charakterisiert werden, die für den Verdauungsablauf und andere physiologische Prozesse von vorrangiger Bedeutung sind. Dazu zählten die Ermittlung der Ballaststoff-Zusammensetzung und die Bestimmung von funktionellen Eigenschaften (z. B. Wasserbindungsvermögen, Viskositätsverhalten und rheologische Eigenschaften) der Produkte bzw. der aus den Produkten isolierten β -Glucane. Diese Charakterisierung sollte es erlauben, aus der Breite der hergestellten Produkte jene auszuwählen, die einen gesundheitlich günstigen Effekt erwarten lassen.

Im nächsten Schritt sollten die ausgewählten Extrudate aus Hafermehl, Speisekleie und Novelose 330 im *In-vitro*-Modell nach einer vorgeschalteten Verdauung auf Effekte hin untersucht, die im Dün- und im Dickdarm auftreten. Dazu gehörten die Beeinflussung der Stärkeverdauung und der Wechselwirkungen mit Gallensäuren sowie die Fermentation unter der Bildung von kurzkettigen Fettsäuren.

Im Ergebnis dieser beiden vorangehenden Schritte wurden mit optimierten Verfahrensvarianten Haferprodukte für die *In-vivo*-Untersuchungen hergestellt. Im Mittelpunkt der ernährungsphysiologischen Untersuchungen stand ein sechswöchiger Fütterungsversuch an konventionellen Wistar-Ratten. Als

Zielgrößen zur Beurteilung der Wirksamkeit der Haferprodukte dienten vornehmlich die Konzentrationen an Serumlipiden, kurzkettigen Fettsäuren und Steroiden in Darminhalten und in den Faeces. Die Analysen zur Einschätzung der Zusammensetzung der Mikroflora sollten Auskunft über die erzielbaren präbiotischen Effekte geben.

Die *In-vivo*-Untersuchungen wurden mit einer Human-Pilotstudie, in der 100 g/d eines ausgewählten Hafermehl-Novelose-Extrudats von gesunden Probanden über einen Zeitraum von 4 Wochen verzehrt wurden, abgeschlossen. Gemessen wurden hierbei die Serumlipidspiegel, die Ausscheidung von Gallensäuren, neutralen Sterolen und kurzkettigen Fettsäuren sowie ausgewählte Keimgruppen der intestinalen Mikroflora in den Faeces.

Die Ergebnisse sollten dazu beitragen, Aussage über potentielle gesundheitsfördernde Effekte von Ballaststoff-angereicherten Haferprodukten zu machen. Dadurch sollen auch der Lebensmittelindustrie Anregungen zur Erweiterung der Produktpalette für prophylaktisch wertvolle diätetische Erzeugnisse auf der Basis von Hafer gegeben werden.

Die der Dissertation zugrundeliegenden experimentellen Arbeiten waren Bestandteil eines AiF-Projektes (Nr. 12716 BR).

2 Material und Methoden

2.1 Herstellung und Zusammensetzung der Haferproben

Die meisten der in den technologischen sowie in den *In-vitro*- und *In-vivo*-Untersuchungen verwendeten Proben auf der Basis von Hafer wurden mittels Extrusion bzw. Autoklavieren hergestellt. Zunächst wurden die Ausgangsmaterialien (Getreideprodukte, Ballaststoffpräparate), die für die Herstellung der Haferproben eingesetzt werden sollten, charakterisiert. Weiterhin wurden die Extrusions- und Autoklavierbedingungen zusammengestellt. Die Zusammensetzung der Extrudate und Proben, die in den *In-vitro*- und *In-vivo*-Untersuchungen eingesetzt werden, wird in den folgenden Abschnitten angegeben.

2.1.1 Verwendete Getreide- und Resistente-Stärke-Präparate

Die Haferprodukte für die Extrusionsversuche wurden von der Industrie zur Verfügung gestellt. Haferkerne (gedarrt), Haferflocken, Haferstärkemehl und Backhaferkleie wurden von der Fa. Peter Kölln Köllnflockenwerke (Elmshorn) bereitgestellt. Die gedämpften Haferkerne stammten von der Fa. C. Hahne Mühlenwerke (Bad Oeynhausen). Weiterhin wurde Hafer der Sorten „Marion“, „Hecht“ und „Kanton“ (Nordsaat, Kranzkewitz) verwendet.

Für die Vorversuche zur Optimierung der Extrusionsbedingungen und zur Überprüfung, ob auch in Hafer mittels Extrusion RS generiert werden kann, wurden folgende weitere Komponenten eingesetzt:

kommerzielle Maisstärke

Dextrin

Amylosereiche Stärken:

Hylon VII; 70 % (National Starch & Chemical, Manchester, Großbritannien),

Eurylon 7 (Roquette Frères, Lestrem, Frankreich)

Amylopektinreiche Stärken:

Amioca Powder TF (National Starch & Chemical),

Waxilys 200 (Roquette)

kommerziell verfügbare Resistente-Stärke-Präparate:

Novelose 240 (National Starch & Chemical),

Novelose 330 (National Starch & Chemical).

Hylon VII und Eurylon 7 enthalten 70 % Amylose und werden aus Maisstärke bereitet. Amioca Powder und Waxilys sind native Lebensmittelstärke auf Wachsmaisbasis. Die Novelose-Präparate werden aus amylosereicher Maisstärke bereitet. Novelose 240 ist eine granuläre native Stärke vom RS Typ 2 (62,9 % RS), während es sich bei Novelose 330 um eine nicht-granuläre, retrogradierte Stärke vom RS Typ 3 (45,5 %) handelt.

2.1.2 Aufarbeitung der Haferprodukte

Gedarrte Haferkerne wurden aus der laufenden Produktion entnommen. Durch trockene Hitze (Kerntemperatur ca. 80 °C) wurden die hafereigenen Enzyme (einschließlich der Lipasen, Lipoxidasen und β -Glucanasen) inaktiviert.

Hafermehl wurde durch einen Mahlprozess mittels eines Desintegrators (Rekardt, Jemlich, Nossen) aus Kernen, Grütze oder Haferflocken hergestellt (Siebgrößen: 0,5 und 2 mm).

Haferspeisekleie wurde durch die Abtrennung der äußeren Schichten vom Endosperm hergestellt. Die von Spelzen befreiten Haferkörner wurden gemahlen, ausgewalzt und dann erneut gemahlen oder geschnitten und gemahlen. Die Haferkleie wurde dann durch Sichten und Sieben abgetrennt.

2.1.3 Extrusionstechnik

Bei den Extrusionsversuchen kamen folgende Extruder zum Einsatz:

Einschnecken-Labor-Extruder, Typ DN 20 (Brabender, Duisburg); Verfahrenslänge 20 D (Durchmesser der Schnecke). Die Dosierung erfolgte mit einem K-TRON S oder Doppelschnecken-Compact-Dosiergerät, Typ KMV KT 20.

Der Doppelschnecken-Extruder ERMAFA (ERMAFA Kunststofftechnik, Chemnitz) arbeitet im industriellen Maßstab und ermöglicht einen hohen thermischen und mechanischen Energieeintrag in das zu extrudierende Gut. Dadurch wird es möglich, einen intensiven Stärkeaufschluss zu erreichen.

Zur Bewertung des Extrusionsvorganges wurde der spezifische mechanische Energieeintrag (SME) ermittelt, der sich aus dem mittleren Drehmoment (M_d), der Winkelgeschwindigkeit (ω) und dem Durchsatz (m) errechnet (Gleichung 1):

$$\text{SEM} = M_d \times \omega / m \quad (1)$$

Die Optimierung der Bedingungen zur Herstellung der Haferproben durch Extrusion erfolgte zunächst im Labormaßstab mit Hafer im Einschnecken-Extruder von Brabender. Dabei wurden bei einer Drehzahl von 200 U/min verschiedene Parameter variiert: Temperatur (90-170 °C), Feuchte (15-30 %), Schneckenkonfiguration (1:3 und 1:4) und Düse 4 und 5 mm.

In folgenden Serien wurde dann getestet, wie sich der 20 % Zusatz von verschiedener Getreideprodukte zu Hafer auf die Eigenschaften der Extrudate auswirkt. Weiterhin wurde der Einfluss weiterer Haferrohstoffe (Haferstärkemehl, Haferkleie), von definierten Hafersorten („Marion“, „Hecht“, „Kanton“), des Zusatzes von Pullulanase oder Citronensäure und des Zusatzes von kommerziell verfügbaren RS-Präparaten (Novelose 240 und 330) sowie eine Reextrusion auf die Eigenschaften der Extrudate untersucht. Die Extrusion erfolgte in diesen Untersuchungen bei 130 °C, einer Feuchte von 25 %, einer Schneckenkonfiguration von 1:3 und mit der Düse 4 mm bei einer Drehzahl von 200 U/min.

In diesen Experimenten sollten die Eigenschaften der Extrudate für die *In-vitro*- und die *In-vivo*-Untersuchungen optimiert werden. Weiterhin sollte überprüft werden, ob es möglich ist, RS mittels Extrusion in Haferprodukten zu generieren.

2.1.4 Autoklavieren von Hafer

Neben extrudierten wurden auch autoklavierte Haferproben bereitete und charakterisiert. Es wurde auch untersucht, ob durch die intensivere Einwirkung thermischer Energie beim Autoklavieren von Haferprodukten resistente Stärke gebildet wird.

Im Autoklav Sinoclav (Adolf Wolf, Bad Überkingen-Hausen) wurden 100 g Haferprodukte bei einer Feuchte von 20-25 % ; 0,5-2 h in abgedeckten 250-ml-Bechergläsern bei 110-145 °C behandelt.

2.1.5 Versuchsmaterial für die *In-vitro*-Untersuchungen

Für die Hauptversuche zur Bestimmung von physiologischen Wirkungen der Haferextrudate *in vitro* wurde eine Serie von Extrudaten aus Hafermehl, Haferkleie sowie Novelose 330 im Brabender DN 20 hergestellt. Die Extrusion erfolgte unter folgenden Bedingungen: Feuchte: 25 %; Temperatur: 130 °C; Drehzahl: 200 U/min; Schnecke: 3; Düse: 4 mm. Die Zusammensetzung der Extrudate ist in Tab. 3.1-1 zusammengestellt.

Tab. 3.1-1: Zusammensetzung der Extrudate für die *In-vitro*-Untersuchungen

Bezeichnung	Hafermehl	Haferkleie	Novelose 330
	Zusammensetzung (%)		
M	100		
MN	80		20
Mix1	62,5	17,4	20
Mix2	40	40	20
KN		80	20

2.1.6 Versuchsmaterial für die *In-vivo*-Untersuchungen

Für den Fütterungsversuch an Ratten wurde eine Serie von Extrudaten bzw. Proben auf der Basis von Hafer bereitete. Die Auswahl erfolgte auf der Grundlage der Ergebnisse der *In-vitro*-Untersuchungen. Neben Extrudaten unterschiedlicher Zusammensetzung wurden nicht extrudierte Haferkleie und eine autoklavierte Probe aus Hafermehl und Novelose bereitete (Tab. 3.1-2).

Tab. 3.1-2: Zusammensetzung der Extrudate und Produkte auf der Basis von Hafer für die *In-vivo*-Untersuchungen

Bezeichnung		Hafermehl	Haferkleie	Novelose 330
		Zusammensetzung (%)		
M	Extrudat	100		
MN	Extrudat	80		20
K	nicht behandelt		100	
KN	Extrudat		80	20
M#	autoklaviert	100		

Die Herstellung der Extrudate erfolgte im Extruder ERMAFA DS 6.0 unter folgenden Bedingungen: Temperatur 130 °C; Feuchte 25 %; Drehzahl 120 U/min; Dosierung 100 kg/h; spezifische mechanische Energieeinleitung 140 Wh/kg.

Die Probe M# wurde in 10 Chargen durch einstündige Behandlung bei 140 °C und bei einer Feuchte von 25 % im Autoclaven Sanoclav in jeweils 2 Zyklen mit zwischenzeitlichem Abkühlen auf < 60 °C bereitet.

Der Ernährungsversuch am Menschen wurde mit dem Extrudat MN durchgeführt.

2.1.7 Herstellung und Zusammensetzung der Diäten für den Fütterungsversuch

Die Diäten für den Fütterungsversuch an Ratten (Futterproben) wurden im Max-Rubner-Laboratorium des DIfE selbst bereit. Die einzelnen Bestandteile der Diäten wurden in einer Mischmaschine FM 50 (Gebrüder Lödige Maschinenbau GmbH, Paderborn) bei 100 U/min unter Zusatz von 2,4 l Wasser/kg gemischt (ca. 15 min) und dann in einer Pelletiermaschine Typ 14-175 (Amandus Kahl Nachf., Reinbek) pelletiert. Die Produkte wurden vor Beginn der Versuche ca. 4 d an der Luft getrocknet.

Beim Futter für alle Tiergruppen handelte es sich um ein vollwertiges Standardfutter. Die prozentuale Zusammensetzung der Diäten für die Kontrollgruppe und die Versuchsgruppen ist in Tab. 3.1-3 zusammengefasst. Das Futter der Versuchsgruppen enthielt jeweils 50 % Haferextrudate bzw. -produkte und nur 13 % Weizenstärke.

Tab. 3.1-3: Zusammensetzung der Diäten für die Fütterungsversuche an Ratten

Futterbestandteil	Kontrolle S	Diät M	Diät MN	Diät K	Diät KN	Diät M#
Weizenstärke ¹ (%)	63,0	13,0	13,0	13,0	13,0	13,0
Haferextrudat/-produkt* (%)	0	50,0 (M)	50,0 (MN)	50,0 (K)	50,0 (KN)	50,0 (M#)
Casein ² (%)	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Sonnenblumenöl ³ (%)	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Cellulose ⁴ (%)	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Mineralvormischung ⁵ (%)	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Vitaminvormischung ⁶ (%)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

* Haferextrudate bzw. -produkte (siehe Tab. 3.1-2). ¹ Weizenstärke (Hermann Kröner GmbH & Co. KG, Ibbenbüren); ² Casein (Bayerische Milchindustrie eG, Landshut); ³ Sonnenblumenöl (Brölio Europe GmbH/Ölmühle GmbH + Co., Hamm); ⁴ mikrokristalline Cellulose (Vivapur, Heweten 20; J. Rettenmaier & Söhne GmbH + Co., Ellwangen-Holzmühle); ⁵ Mineralstoff- und Spurenelementevormischung C 1000 (Altromin GmbH, Lage); ⁶ Vitaminvormischung C 1000 (Altromin, Lage).

Zusammensetzung der Mineralvormischung pro kg: Calcium 146070,34 mg; Phosphor 97355,04 mg; Magnesium 8784,27 mg; Natrium 39229,41 mg; Kalium 116496,45 mg; Schwefel 10535,81 mg; Chlor 63510,38 mg; Eisen 2931,22 mg; Mangan 1733,86 mg; Zink 387,54 mg; Kupfer 85,21 mg; Jod 7,50 mg; Molybdän 3,31 mg; Fluor 70,08 mg; Selen 3,84 mg; Kobalt 2,06 mg; Aluminium 0,07 mg.

Zusammensetzung der Vitaminvormischung pro kg: Vitamin A 750000 IE; Vitamin D₃ 25000 IE; Vitamin E 7500 mg; Vitamin K₃ 500 mg; Vitamin B₁ 1000 mg; Vitamin B₂ 1000 mg; Vitamin B₆ 750 mg; Vitamin B₁₂ 1,500 mg; Nicotinsäure 2500 mg; Pantothenensäure 2500 mg; Folsäure 500 mg; Biotin 10 mg; Cholinchlorid 50000 mg; *p*-Aminobenzoesäure 5000 mg; Inosit 5000 mg; Vitamin C 1000 mg; Methionin 173250 mg.

2.2 Analyse der Haferproben und –präparate

2.2.1 Basisanalytik der Inhaltsstoffe

Zur chemischen Charakterisierung der Rohstoffchargen wurden alle Haferproben auf ihre Hauptinhaltsstoffe untersucht. Dabei wurden folgende Analysemethoden angewandt:

Feuchte:	nach ISO 1237-1981
Mineralstoffe:	nach ISO 1237-1981
Protein:	nach § 35 LMGB 17.00-15
Gesamtfett:	nach § 35 LMGB 17.00- 4
Stärke:	enzymatisch (Boehringer, Mannheim)
Glucose, Fructose, Saccharose:	enzymatisch (Boehringer) sowie HPAEC/PAD

2.2.2 Bestimmung von resistenter Stärke

Zur Bestimmung von RS wurden verschiedene Methoden und Varianten eingesetzt. Die wesentlichen sind die Methode von Englyst *et al.* (1992) sowie die Methode von Berry (1986), die in der Modifizierung von Champ (1992) angewandt wurden. Alle Methoden simulieren den Abbau der verdaulichen Stärke und die Abtrennung der hierbei gebildeten Glucose und Glucose-Oligomere. Unterschiede zwischen den Methoden ergeben sich vor allem in der weiteren Aufarbeitung der übrig bleibenden RS-Fraktion, in ihrer Überführung in eine lösliche Form, in ihrem enzymatischen Abbau sowie in der Analyse der gebildeten Glucose.

Modifizierte Englyst-Methode: Zum Abbau der verdaulichen Stärke wurden für Drei- bzw. Fünffachbestimmungen jeweils 100 mg Stärkematerial (Korngröße < 0,5 mm) in Tubes eingewogen. Zu den Proben wurden 10 ml Acetatpuffer (0,1 M; pH 5,2) sowie 5 ml einer Pankreatin-Lösung gegeben. Diese Lösung wurde folgendermaßen bereitet: 12 g Schweine-Pankreatin (Merck, Darmstadt) wurden in 80 ml Wasser (10 min bei 37 °C unter Rühren) suspendiert und dann 10 min bei 4 °C und 3000 g zentrifugiert. Der Überstand (54 ml) wurde mit 138 µl Amyloglucosidase (Sigma, Steinheim) und 10 ml Wasser versetzt und 2 h im Wasserbad bei 37 °C geschüttelt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde zur inkubierten Probe die vierfache Menge an 96%igem Ethanol (EtOH) zugegeben und 1 h zur Fällung der RS stehen gelassen. Die Proben wurden 10 min bei 4 °C mit 2800 g zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig mit einer Pipette abgenommen und verworfen. Der Rückstand wurde zweimal unter Zentrifugieren mit 80%igem EtOH gewaschen und dann gefriergetrocknet. Die getrocknete Probe wurde vor der RS-Bestimmung in 1 ml Wasser und 1 ml 2 M NaOH unter Reiben mit einem Kunststoffstab und Behandlung am Vortex aufgelöst und dann mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Von der Probenlösung wurden 0,2 ml mit 0,1 ml Amyloglucosidase-Lösung 15 min bei 58 °C inkubiert. Die gebildete Glucose wurde auf enzymatischem Weg mit dem Stärke-UV-Test von Boehringer (Mannheim) bestimmt indem sie zu Glucose-6-phosphat in Gegenwart von Hexokinase umgesetzt wird. Nach Zugabe von NADP⁺ wurde bei 340 nm die Extinktion des gebildeten NADPH gemessen, die proportional zur Menge an Glucose und damit an RS ist. Weiterhin wurde die Gesamtstärke in

den Stärkematerialien durch sofortiges Lösen in 1 M NaOH, Pankreatinabbau und enzymatischer Glucosebestimmung ermittelt.

Von Champ modifizierte Berry-Methode: Es wurden 100 mg gemahlene Probe (< 0,5 mm) eingewogen und mit 10 ml einer Pankreas- α -Amylase-Lösung (Sigma) (500 Einheiten in 0,1 M Tris-Maleat-Puffer-Lösung mit 4 mM CaCl_2 , pH 6,9) 16 h bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurde mit 96%igem EtOH gefällt (1 h stehen lassen) und zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen. Der Rückstand wurde zweimal mit 80%igem Ethanol gewaschen, im Trockenschrank (60 °C) getrocknet und in 2 ml 2 M KOH suspendiert (30 min bei Raumtemperatur unter mehrfachem Mischen). Nach Zugabe von 12 ml Wasser wurde mit 1,5 ml Aliquots weitergearbeitet. Durch Zugabe von 0,65 ml 2 M Essigsäure wurde ein pH-Wert von 4,5 eingestellt. Der Abbau der RS erfolgte mit 0,1 ml Amyloglucosidase-Lösung (20 Einheiten in 0,1 M Natriumacetatpuffer, pH 4,5) (90 min bei 65 °C). Die freigesetzte Glucose wurde auf chromatographischem Wege mittels HPAEC/PAD (engl.: high-performance anion-exchange chromatography/pulsed amperometric detection) bestimmt. Die Detektion der in der Probe enthaltenen Stoffe (Glucose) basiert auf deren Oxidation an der Oberfläche der Arbeitselektrode (Goldelektrode) und dem daraus resultierenden Stromfluss. Dieser Strom ist proportional zur Glucose-Konzentration. Die Lösungen der Proben wurden vor der Auftragung durch Membranfiltration (0,45 μm) gereinigt. Es wurde ein Chromatographiesystem der Fa. Dionex (Idstein) mit einer Vorsäule CarboPac-Guard PA-100, einer Säule CarboPac-Guard PA-100 (4 \times 250 mm) und einer Fließgeschwindigkeit von 1 ml/min verwendet.

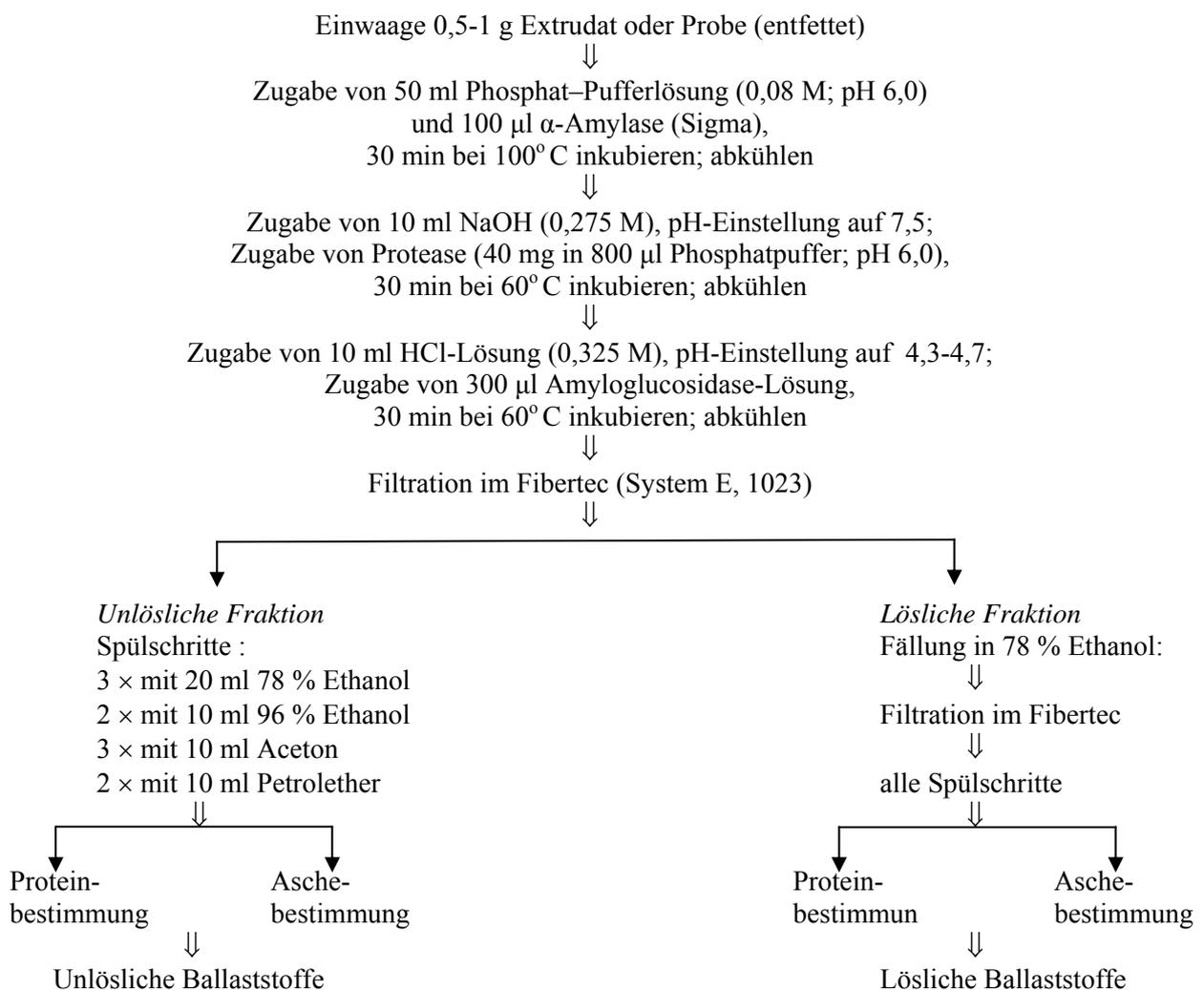
2.2.3 Extraktion und Bestimmung von β -Glucan

Die Extraktion der β -Glucane aus Getreide und Getreideprodukten erfolgte mit Wasser bei pH 7-10 (Na_2CO_3) bei relativ tiefen Temperaturen (Wood *et al.*, 1989). Stärkebestandteile wurden durch Zentrifugieren und Proteine im Überstand durch Fällung bei pH 4,5 abgetrennt. Die Isolierung der β -Glucane erfolgt durch Fällung in 50%igem Isopropanol. Noch anwesende Stärke und Proteine wurden enzymatisch abgebaut. Eine weitere eingesetzte Methode zur Extraktion von β -Glucan arbeitete unter sauren Bedingungen (Bhatty *et al.*, 1991). Hierbei wird das Getreidemehl mit einer 0,2 M KCl/HCl-Lösung (pH 1,5) 2 h bei 40 °C extrahiert.

Die Bestimmung von β -Glucan erfolgte enzymatisch. Dabei werden die β -Glucane zunächst mit einer hochgereinigten Lichenase unter Spaltung der β -(1 \rightarrow 3)-Bindungen in Oligosaccharide zerlegt, die dann mittels einer β -Glucosidase zu Glucose hydrolysiert werden. In unserer Variante erfolgte die quantitative Messung der gebildeten Glucose auf photometrischem Wege bei 340 nm nach Umsetzung mit NADP/ATP und Hexokinase (Boehringer).

2.2.4 Ballaststoffbestimmung

Die Ballaststoffbestimmung erfolgte nach der gravimetrisch-enzymatischen AOAC-Methode gemäß Prosky *et al.* (1985, 1988) und nach § 35 des LMBG (Brätter *et al.*, 1992). Dabei wurde die Stärke in der entfetteten Probe nach Verkleisterung mit hitzestabiler α -Amylase teilweise abgebaut. Anschließend erfolgten der enzymatische Abbau des Proteins und die vollständige Stärkehydrolyse mittels Amyloglucosidase. Weiterhin wurden die unlöslichen und die löslichen Ballaststofffraktionen getrennt aufgearbeitet und gravimetrisch bestimmt. Beide Ballaststofffraktionen wurden bezüglich ihres Gehaltes an Asche und Protein sowie einem Blindwert korrigiert. Die wesentlichen Schritte sind im folgenden Schema skizziert:



2.2.5 Bestimmung der Wasserbindung

Das Wasseraufnahmevermögen wurde nach der Kapillarsaugmethode in Anlehnung an die Baumann-Methode (Arrigoni *et al.*, 1987) mit einer Apparatur nach Heinevetter & Kroll (1982) bestimmt. Die Apparatur besteht aus einem trichterförmigen Gefäß mit poröser Glasfilterplatte (40–90 µm Porenweite), auf der ein Filterpapier mit der Probe liegt. Das Gefäß ist blasenfrei mit Wasser gefüllt und mit einem Kapillarschlauch verbunden, der zwischen den Platten eines elektrischen Kondensators spiralförmig angeordnet ist. Die von der Probe aufgesaugte Flüssigkeit wird in gleicher Menge dem Kapillarschlauch entzogen. Dadurch ergibt sich eine proportionale Änderung der elektrischen Kapazität des Kondensators, die mit einem Linienschreiber als Aufnahme-Zeitkurve aufgezeichnet werden kann. Die aufgenommene Flüssigkeitsmenge (in mg) entspricht dem digital angezeigten Spannungswert. Zunächst wurde das Filterpapier gewogen und anschließend seine Wasseraufnahme bestimmt. Dann wurde eine 10 mg Probe aufgegeben und nach Ende der Flüssigkeitsaufnahme der Filter mit Probe zusätzlich zur Messung der Kapazitätsänderung ausgewogen. Die Wasserbindungskapazität wird in g H₂O/g Substanz angegeben.

2.2.6 Bestimmung der Brabender-Viskosität

Das Viskositätsverhalten der Proben wurde im Viskograph E (Brabender) nach Zerkleinerung in einer Ultrazentrifugalmühle (Retsch, Haan) mit einem 12-Zahn-Rotor und dem 0,5-mm-Sieb unter folgenden Bedingungen gemessen: Messbereich 700 cmg, Drehzahl 75 U/min, Start-Temperatur 30 °C, maximale Temperatur 95 °C (Haltezeit 15 min), End-Temperatur 30 °C (Haltezeit 5 min) und Heiz-/Kühlrate 1,5 °C/min. Die Auswertung erfolgte über die gemessenen Brabender-Einheiten, die der Viskosität proportional sind. Dazu wurden insbesondere der maximale Wert während der Aufheizphase und der Wert am Ende der Kühlzeit herangezogen.

2.2.7 Bestimmung der Säure-Extrakt-Viskosität

Die Bestimmung der so genannten Säure-Extrakt-Viskosität (engl.: acid extract viscosity; AEV) erfolgte nach Bhatti *et al.* (1991) und Huth *et al.* (2000). Es wurden 50 g der Haferextrudate bzw. -proben in 400 ml 0,2 M KCl/HCl (82,8 ml 1 N HCl und 7,46 g KCl) suspendiert und unter leichtem Rühren etwa 30 min bei Raumtemperatur behandelt. Der pH-Wert wurde mit 1 N HCl auf 1,5 korrigiert. Dann wurde mit 0,2 M KCl/HCl auf 500 ml aufgefüllt und weitere 2 h bei 40 °C unter Schütteln bzw. Rühren extrahiert. Nach dem Zentrifugieren (20 min bei 6000 g) wurde die Viskosität im Ubbelohde-Viskosimeter bestimmt.

2.2.8 Bestimmung des Molekulargewichts der β -Glucane

Die Bestimmung des Molekulargewichts der β -Glucane erfolgte auf viskosimetrischem Weg über die Erfassung der Grenzviskosität (Viskositätszahl; engl.: intrinsic viscosity) $[\eta]$. In der Literatur werden verschiedene Umrechnungsformeln zwischen der Grenzviskosität und dem Molekulargewicht von Polysacchariden angegeben.

Es wurden 200 mg gereinigtes β -Glucanpräparat, das durch Extraktion aus den Extrudaten oder Proben gewonnen wurde, in 100 ml dest. Wasser vorsichtig gelöst, 10 min bei 2000 g zentrifugiert. Dann wurde die Auslaufzeit von 20 ml der β -Glucanlösung in einem Ubbelohde-Viskosimeter bei $25,0 \pm 0,1$ °C gemessen. Anschließend wurden zur β -Glucanlösung viermal je 5 ml Wasser zugefügt, und es wurde jeweils erneut die Durchlaufzeit gemessen. Aus dem Verhältnis der Durchlaufzeiten von Lösung und Lösungsmittel wurde zunächst die relative Viskosität und dann die spezifische Viskosität berechnet. Die Grenzviskosität $[\eta]$ (in ml/mg) wurde durch Extrapolation der Konzentration auf Null graphisch ermittelt, indem die reduzierte Viskosität gegen die Konzentration innerhalb der Messreihe aufgetragen wurde.

Für verdünnte Lösungen von Polymeren, die nicht verzweigt vorliegen, kann mit Hilfe der Grenzviskosität und der empirisch ermittelten Schröder Konstante (6×10^{-4}) das Molekulargewicht (M) kalkuliert werden: $M = [\eta]/0,0006$. Außerdem wurde die Mark-Houwink-Gleichung zur Berechnung des Molekulargewichts M_w aus der Grenzviskosität eingesetzt (Gleichung 2):

$$[\eta] = k \times M_w^a \quad (2),$$

k und a sind von der Natur des Makromoleküls und des Lösungsmittels abhängig. Gemäß Vårum *et al.* (1991) werden der Faktor $k = 0,00067$ und der Exponent $a = 0,75$ verwendet.

2.2.9 Herstellung der β -Glucanextrakte für die rheologischen Messungen

Es wurden jeweils 50 g der Haferextrudate bzw. -produkte M-M# zunächst 5 min in 500 ml 96%igem EtOH unter Rückfluss gekocht. Dadurch wurden möglicherweise noch anwesende Enzyme inaktiviert und die Lipide extrahiert. Nach dem Zentrifugieren (20 min bei 4 °C und 3800 g), wurde der Rückstand in 600 ml Wasser suspendiert, mit 10 ml Termamyl 120 L (Novo, Nordisk) sowie 224 mg CaCl_2 versetzt und zum Abbau der Stärke sowie zur Extraktion der β -Glucane 2 h bei 96 °C unter leichtem Schütteln behandelt. Der Rückstand nach dem Zentrifugieren (20 min bei 4 °C und 3800 g) wurde noch zweimal mit 50 ml Wasser extrahiert und erneut zentrifugiert. Die vereinigten Überstände wurden zunächst 3 h bei 40 °C mit 200 mg Pankreatin in Gegenwart von 60 mg NaN_3 zum Protein- und weiteren Stärkeabbau behandelt. Dann wurde der Lösung zur Abtrennung niedermolekularer Bestandteile (Glucose, Maltooligosaccharide, Aminosäuren, Peptide, Salze) unter Rühren die gleiche Menge

an 96%igem EtOH zugesetzt, am nächsten Tag wurde 30 min bei 4 °C und 3800 g zentrifugiert. Der Rückstand wurde mehrfach unter Rühren mit 50 bis 96%igem EtOH gewaschen und jeweils erneut zentrifugiert sowie schließlich im Vakuum-Zentrifugalverdampfer getrocknet.

Die isolierten Proben enthielten folgende Konzentrationen an β -Glucan: Probe M = 61,74 %; Probe MN = 53,24 %; Probe K = 55,66 %; Probe KN = 61,93 % und Probe M# = 63,53 % (bezogen auf die Originalsubstanz). Von dem in den Haferextrudaten bzw. -präparaten anwesendem β -Glucan wurden weniger als 50 % isoliert.

Für die rheologischen Messungen wurden 2%ige und/oder 4%ige wässrige Lösungen der β -Glucanproben bereit. Zur Lösungsverbesserung wurde das β -Glucan vor der Lösung in 25 ml Wasser (in Gegenwart von NaN_3) mit 0,2 ml EtOH angefeuchtet. Die Proben wurden 20 min auf 90 °C im Wasserbad erhitzt und anschließend 48 h bei 25 °C im Wasserbad geschüttelt. Nach erneutem Erhitzen auf 90 °C (20 min) und Behandeln am Vortex-Mixer wurden die Proben vor der Messung über Nacht erneut bei 25 °C geschüttelt. Ein möglicherweise eingetretener Wasserverlust wurde korrigiert. Die Proben waren während der Messungen stabil.

2.2.10 Rheologische Messungen

Verwendet wurde das Hochleistungsrheometer UDS 200 (Paar-Physica, Stuttgart) mit Luftlagertechnik und allen bekannten rheologischen Messoptionen (außer Optorheologie). Da die Probenmenge nur begrenzt hergestellt werden konnte, wurden folgende Messeinstellungen bei Nutzung von jeweils einer Probenvorlage unmittelbar hintereinander durchgeführt:

- 1) Frequenzsweep als zerstörungsfreie Materialprüfung
- 2) Amplitudensweep als zerstörungsfreie Materialprüfung (hier aufgrund der Probencharakteristik sicher zerstörungsfrei durchgeführt)
- 3) Spannungsmessung mit Hinlaufkurve, Rampe zur Bestimmung des rheodynamischen Verhaltens und Rücklaufkurve mit Bestimmung der rheologischen Parameter.

Die Schergeschwindigkeit wurde nach berechnet als relevante auftretende Scherung des Nahrungsbreies im Dünndarm nach Gleichung (3):

$$\dot{\gamma} = \frac{4 \cdot \dot{V}}{\pi \cdot R^3} \quad \text{in s}^{-1} \quad (3)$$

Verwendet wurde das DIN Schersystem Z3 DIN (äußerer Messkörper, Zylinder mit Profil), um mögliche Wandgleiteneffekte der Probe zu kompensieren. Die Messungen erfolgten bei $20 \pm 0,01^\circ\text{C}$ mit einem Messvolumen von 17 ml. Eine detaillierte Untersetzung der Messanstellungen ist nachstehend zusammengestellt:

- | | | |
|---|--|----------------|
| 1) Frequenzsweep:
(kein Pre-Shearing). | $0,001 \leq f \leq 100 \text{ Hz}; \gamma = 0,001$ | 30 Messpunkte; |
| 2) Amplitudensweep: | $0,0001 \leq \gamma \leq 0,1; f = 1 \text{ Hz}$ | 30 Messpunkte. |

Das Speichermodul G' , das Verlustmodul G'' der Verlustwinkel $\tan \delta$ und die komplexe Viskosität $|\eta^*|$ wurden in Abhängigkeit von der Frequenz f im Frequenzsweep bzw. von der Deformation γ im Amplitudensweep berechnet.

- | | | | |
|----------------------------------|--|------|----------------|
| 3) Schergeschwindigkeitsvorgaben | | | |
| Hinlaufkurve: | $0,1 \leq \dot{\gamma} \leq 10 \text{ s}^{-1}$ | 60 s | 30 Messpunkte; |
| Rampe: | $\dot{\gamma} = 10 \text{ s}^{-1}$ | 60 s | 30 Messpunkte; |
| Rücklaufkurve: | $0 \geq \dot{\gamma} \geq 0,1 \text{ s}^{-1}$ | 60 s | 30 Messpunkte. |

Die Ermittlung der rheologischen Zustandsgleichung und ihrer Parameter erfolgte aus der Messung der Rücklaufkurve mit Verwendung der Messdaten nach den Modellen von Herschel-Bulkley (HB) und Casson (CA) für plastische Systeme sowie von Ostwald-de Waele (OW) für strukturviskose nicht-Newtonsche Systeme. Es wurden die Fließgrenze τ_0 , der Konsistenzfaktor K und der Fließexponent n ermittelt. Die Dichte der β -Glucanlösungen (innerhalb der rheologischen Untersuchungen) wurde mittels einer konventionellen Pyknometermessung bei 20 °C ermittelt.

Die rheologischen Messungen erfolgten an der Technischen Universität Berlin, Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, FG Rheologie.

2.3 *In-vitro*-Untersuchungen

2.3.1 *In-vitro*-Verdauung der Haferextrudate

Da die Extrudate bzw. Hafer-/Getreideprodukte neben den Ballaststoffkomponenten auch teilweise große Anteile an verdaulicher Stärke enthalten, musste diese Stärkefraktion vor den vorgesehenen Untersuchungen enzymatisch abgebaut werden (*In-vitro*-Verdauung). Der Abbau der verdaulichen Stärke in den Extrudaten erfolgte in Anlehnung an physiologische Bedingungen durch Behandlung mit Pankreatin und Amyloglucosidase (und den Bedingungen der Bestimmung von RS).

Es wurden 10 g der Extrudate in einem Gemisch aus 1000 ml 0,1 M Acetatpuffer (pH 5,2) und 500 ml des Enzymgemisches 2 h in einem Sulferkolben unter Rühren bei 37 °C inkubiert. Danach wurden die Proben zur Fällung der nicht abgebauten Anteile mit der vierfachen Menge an 96%igem EtOH versetzt und 1 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. Der Rückstand wurde zweimal mit 80%igem EtOH gewaschen, dann in 96%igem EtOH zur Enzyminaktivierung 30 min gekocht und schließlich zu Trockenprodukten aufgearbeitet.

Das Enzymgemisch wurde auf folgende Weise bereitet: Es wurden 94 g Pankreatin (Merck) in 626 ml Wasser 10 min unter Rühren gelöst und dann 10 min bei 4 °C und 3000 g zentrifugiert. Vom Überstand

wurden 422 ml abgenommen. Weiterhin wurden 1,08 ml Amyloglucosidase (Sigma) mit Wasser auf 78 ml aufgefüllt. Beide Lösungen (insgesamt 500 ml) wurden zum Abbau der verdaulichen Stärke in den Extrudaten eingesetzt.

2.3.2 Stärkeverdauung *in vitro* in Gegenwart von Haferextrudaten und Ballaststoffen

Es wurden 100 mg verdauliche Maisstärke in 10 ml 0,1 M Acetatpuffer (pH 5,2) gelöst bzw. suspendiert. Dazu wurden 125-750 mg der verdauten Extrudate oder 50-100 mg einer Alkohol-unlöslichen Substanz (AUS) aus Äpfeln oder 100-250 mg Pektin gegeben. Diese Gemische wurden mit 5 ml Enzymlösung bis zu 2 h bei 37 °C inkubiert. Zur Herstellung dieser Enzymlösung wurden 0,3 g Pankreatin (Merck) in 80 ml dest. Wasser gelöst. Die freigesetzte Glucose wurde auf enzymatischem Wege mit NADP/ATP und Hexokinase direkt bestimmt.

Die AUS wurde aus Äpfeln der Sorte Boskoop (Region Potsdam) durch Zerkleinerung in der doppelten Menge an 96%igem Ethanol und zweifachem Kochen unter Rückfluss (je 15 min), Waschen mit Ethanol steigender Konzentration sowie Aceton und Trocknen bereitet. Die AUS enthält 16,3 % Gesamtpektin, 23,2 % lösliche und 72,4 % unlösliche Ballaststoffe (Dongowski *et al.*, 2001). Das eingesetzte hochveresterte Citruspektin (Copenhagen Pectin A/S, Lille Skensved, Dänemark) besaß folgende Parameter: Galacturonan = 68,9 %, Veresterungsgrad mit MeOH = 70,4 % und Grenzviskosität $[\eta] = 782$ ml/g Galacturonan.

2.3.3 Bestimmung des Gallensäurenbindungsvermögens *in vitro*

Es wurden 100 mg der verdauten Extrudate 2 h bei 37 °C in 10 ml Sörensenpuffer (pH 5,0 oder 6,5), die 0,5 mmol/l Glycocholsäure (GCA) oder Glycodesoxycholsäure (GDC) enthielten, im Schüttelwasserbad Haake SWB 20 (Geschwindigkeitsstufe 60) behandelt. Anschließend wurden diese Gemische 10 min bei 4 °C und 3000 g zentrifugiert. Dann wurden 0,5 ml des Überstandes durch Festphasenextraktion an Bakerbond spe C₁₈ gereinigt (J.T. Baker, Gross Gerau). In den getrockneten Filtraten wurden die nicht gebundenen Anteile der GS (an der freien Carboxylgruppe) mit 4-Brommethyl-7-methoxycumarin (BMC) derivatisiert und mittels HPLC (High Performance Liquid Chromatography) bestimmt. Es wurden die Peakflächen von jeweils 6 Parallelversuchen mittels Eichgeraden für die Bindungsversuche ausgewertet. Die Derivatisierung und Bestimmung der GS ist unter 3.4.5 detailliert beschrieben.

2.3.4 *In-vitro*-Fermentation

Bei der Fermentation wurde frische Faecesflora von 3 gesunden Probanden, die zuvor mindestens 6 Monate keine Antibiotika eingenommen hatten, eingesetzt.

Es wurden 20 g Faeces und 60 ml 0,1 M Phosphatpuffer (pH 6,5) im sterilen Kulturgefäß angesetzt (Suspension). Unter Stickstoff-Begasung wurden jeweils 15 mg der verdauten Extrudate in einer Doppelbestimmung mit genau 1 ml der Faeces-Suspension in einem 2 ml-Eppendorf-Gefäß vermengt, am Vortex-Mixer homogenisiert und anschließend im Wasserschüttelbad (Haake SWB 20) bei 37 °C bei einer konstanten Schüttelgeschwindigkeit behandelt. Die Nullprobe (0 h) wurde ohne Temperierung im Wasserschüttelbad sofort bei -80 °C eingefroren. Nach 1, 2, 4, 6 und 8 h (teilweise auch nach 10 und 24 h) wurden die Proben entnommen und sofort bei -80 °C zwischengelagert.

Die weitere Probenaufarbeitung und die Bestimmung der SCFA mittels Gaschromatographie ist im Kapitel 3.4.6 beschrieben.

2.4 *In-vivo*-Untersuchungen

2.4.1 Fütterungsversuch an Ratten

Im Fütterungsversuch an Ratten wurden BS-reiche Haferprodukte aus optimierten Verfahrensvarianten getestet. Der Versuch wurde beim Ministerium für Landwirtschaft, Umweltschutz und Raumordnung des Landes Brandenburg am 21.10.2002 als Tierversuchsanzeige nach § 6 des Tierschutzgesetzes angezeigt und am 01.11.2002 bestätigt. Der Versuch wurde im Max-Rubner-Laboratorium des DIfE durchgeführt.

Die Untersuchungen erfolgten 6 Wochen lang mit wachsenden männlichen Ratten (Stamm: Wistar; Tierzucht Schönwalde GmbH, Schönwalde), die ein Körpergewicht von ca. 80 g bei Versuchsbeginn besaßen. Die Tiere wurden in Einzelkäfigen (bei 22 ± 2 °C und 55 ± 5 % Feuchtigkeit) gehalten. Vor Beginn des Versuchs erhielten alle Tiere eine Woche lang das Kontrollfutter (0. Woche). Dann wurden die Tiere in eine Kontrollgruppe und 6 Versuchsgruppen zu je 10 Tieren aufgeteilt. Während die Kontrollgruppe weiterhin die Kontrolldiät Standarddiät (S) erhielt, wurden die Versuchsgruppen M, MN, K, KN und M# mit den Diäten M, MN, K, KN bzw. M# gefüttert, die neben Hafermehl oder Haferkleie auch teilweise Novelose 330 enthielten (Tab. 3.1-3).

Zu den Untersuchungsparametern gehörten die wöchentliche Gewichtskontrolle und Bestimmung der aufgenommenen Futter- und Wassermenge sowie das Befinden der Tiere. Es erfolgten weiterhin in regelmäßigen Abständen die Bestimmung von Gallensäuren und der neutralen Sterole sowie der kurzkettigen Fettsäuren in den Faeces und die Ermittlung der Zusammensetzung der Mikroflora und Serumlipide.

Zur Gewinnung der "24-h-Faecesproben" wurden die Tiere am Vortag einzeln auf Roste gesetzt. Die Faeces wurden sorgfältig vollständig eingesammelt, gewogen und gefriergetrocknet (Analysen: Ausbeute, TM, Gallensäuren, neutrale Sterole). Frischfaeces wurden vom Tier abgenommen und sofort aufgearbeitet (Analysen: SCFA, pH-Werte, TM). Folgende Keimzahlen wurden bestimmt: Gesamtkeimzahl (aerob und anaerob), *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *Bacteroides* und Hefen. Die Blutabnahme erfolgte nüchtern nach 16 h Nahrungskarenz aus dem Augenplexus (ca. 1 ml). Folgende Parameter wurden ermittelt: Gesamt-Cholesterol, LDL-Cholesterol, HDL-Cholesterol und Triglyceride. Am Tötungstag wurden die Darmgewichte ermittelt und die Darminhalte isoliert und eingefroren: Dünndarm, Caecum und Colon (proximal und distal). Von folgenden Organen wurde vor dem Einfrieren das Gewicht bestimmt: Leber und Milz. Weiterhin wurden Proben aus dem Colon für histologische und immunohistochemische Untersuchungen entnommen.

2.4.2 Ernährungsversuch am Menschen

Zur Bestimmung physiologischer Wirkungen der Haferprodukte am Menschen in einer Pilotstudie wurde das Extrudat MN, das aus Hafermehl und Novelose 330 hergestellt wurde ausgewählt. Der Versuch wurde durch die Ethikkommission der Universität Potsdam am 24.05.2000 genehmigt.

Zwölf gesunde Probanden (Alter 22-38 Jahre; BMI 18-30; 9 weibliche und 3 männliche), die in den letzten 3 Monaten vor oder während des Versuchs keiner Antibiotika-Therapie unterlagen, konsumierten innerhalb einer Testphase von 4 Wochen täglich 100 g des Extrudats MN über den ganzen Tag verteilt zusätzlich zu ihrer habituellen Diät. In diesem Zeitraum verzichteten die Probanden auf den Konsum von Haferprodukten (z.B. Haferflocken und Haferbrot) in ihrer habituellen Diät. Untersuchungen erfolgten vor dem Versuch (Woche 0), während des Versuchs (Wochen 2 und 4) sowie 14 d nach Beendigung des Versuchs (Woche 6; Follow-up). In Tab. 3.4.-1 sind die durchgeführten Analysen zusammengestellt.

2.4.3 Bestimmung der Serumlipide

Zur Bestimmung der Serumlipide wurde den Tieren bzw. Probanden nach einer Nahrungskarenz von ca. 12-14 Stunden Blut abgenommen und bis zur Messung kühl gelagert. Für die Bestimmung der Serumlipide wurden kommerziell erhältliche Enzymkits eingesetzt. Die Bestimmung der Triglyceride erfolgte mit einem enzymatischen Farbttest nach der GPO-PAP-Methode (Olympus Diagnostica GmbH, Hamburg). Cholesterol wurde nach der CHOD-PAP-Methode ermittelt (enzymatischer Farbttest) (Olympus). LDL-Cholesterol wurde mit einem turbidimetrischen Test bestimmt (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim). Die Konzentrationen an HDL-Cholesterol wurden mit einem homogenen enzymatischen Farbttest nach der CHOD-PAP-Methode ermittelt (Olympus).

Die Bestimmung der Serumlipide erfolgte durch das Hygiene Institut Labordiagnostik Potsdam GbR.

Tab. 3.4-1: Untersuchungen im Ernährungsversuch am Menschen

Parameter	Woche 0	Woche 2	Woche 4	Woche 6*
Körpergewicht	×	×	×	×
Wohlbefinden	×	×	×	×
Ernährungsprotokoll	×	×	×	×
SCFA	×	×	×	×
pH-Werte	×	×	×	×
Serumlipide	×	×	×	×
Gallensäuren	×	×	×	×
Neutrale Sterole	×	×	×	×
Mikrobiologie	×		×	

* Follow-up Phase

2.4.4 Bestimmung der Keimzahlen

Die Bestimmung der Keimzahlen an je 6 Tieren pro Gruppe wurde mittels klassischer Methoden durchgeführt. Die Probennahme erfolgte bei den Tieren direkt am After (in sterile Eppendorfgläser). Die Proben von den Ratten bzw. Probanden wurden unmittelbar nach der Entnahme kühl zwischengelagert (4 °C) und innerhalb 1 h weiterverarbeitet. Aus den Proben (ca. 0,15 g) wurden Verdünnungen mit gepuffertem Peptonwasser hergestellt (DAB 10) und jeweils 0,05 ml auf Selektivnährböden aufgebracht und bei 37 °C aerob bzw. anaerob bebrütet. Die hierfür verwendeten Anzuchtbedingungen und Materialien sind in Tab. A3-1 (siehe Anhang) aufgeführt. Ermittelt wurden die aerobe und anaerobe Gesamtkeimzahl sowie *Lactobacillus* sp., *Bacteroides*-Gruppe, *Bifidobacterium* sp. und *Escherichia coli*. Die Keimzahlen wurden als log₁₀ Kolonie-bildende Einheiten (engl.: colony-forming units, CFU) pro g TM angegeben.

Die mikrobiologischen Untersuchungen wurden vom Labor der Gesellschaft für innovative Mikroökologie mbH, Wildenbruch, durchgeführt.

2.4.5 Bestimmung von Gallensäuren und neutralen Sterolen

2.4.5.1 Probenvorbereitung für die Analyse

Es wurden 50 mg der gefriergetrockneten Intestinalinhalte oder Faeces 1 h unter Schütteln bei 80 °C in einem Gemisch aus 2,55 ml 0,5 M NaOH und 23 ml 96 %igem EtOH und nach Zusatz von 7 α ,12 β -Dihydroxy-5 β -cholansäure sowie von 5-Cholesten-3 β ,25-diol als innere Standards für GS sowie NS hydrolysiert. Nach Zentrifugieren (15 min bei 4 °C und 5000 g) wurde der quantitativ isolierte Überstand auf 3 ml in einem Vakuum-Zentrifugalverdampfer (VZ) konzentriert und dann mit 7 ml 1 M NaOH sowie 2 ml Methanol vermischt. Die nichtpolaren NS wurden von den GS mittels dreimaliger Extraktion mit Hexan durch Schütteln und Zentrifugieren (15 min bei 4 °C und 5000 g) abgetrennt.

Die oberen Hexanphasen wurden mit einer Pipette vorsichtig entnommen, im VZ eingedampft, dann in 1 ml EtOH aufgenommen und nach Zentrifugieren in verschlossenen Eppendorf-Röhrchen bei -20 °C bis zur Bestimmung der NS zwischengelagert.

Die untere GS enthaltende Phase der Hexanextraktion wurde zur Bestimmung der GS weiter aufgearbeitet. Nach Entfernung der organischen Lösungsmittelreste im VZ wurde diese Phase auf 50 ml mit bidest. Wasser aufgefüllt. Hiervon wurden Proben zu je 15 ml (entsprechend ca. 15 mg Trockenfaeces) entnommen, von denen 2 für die GS-Bestimmung durch Festphasenextraktion an Bakerbond spe C₁₈-Kartuschen (Baker) gereinigt wurden. Die GS wurden mittels HPLC bestimmt.

2.4.5.2 Bestimmung der neutralen Sterole

Die NS-Analysen wurden mittels Hochleistungs-Dünnschichtchromatographie (HPTLC) auf Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) mit dem HPTLC-System (Camag, Muttenz, Schweiz), bestehend aus dem Automatic TLC Sampler III, dem TLC Scanner II, der ADC-Kammer und der Tauchvorrichtung, durchgeführt. Es wurden bis zu 5000 nl der Probe durch Sprühen aufgetragen. Die Chromatogramme wurden mit Ether-Heptan (55:45; v/v) in einer automatischen Entwicklungskammer entwickelt. Die Platten wurden dann zur Sichtbarmachung der Banden 3 s in Kupfersulfat-H₃PO₄-Reagenz (10%ige CuSO₄-Lösung in 8%iger wässriger H₃PO₄) getaucht und anschließend 5 min auf 180 °C auf dem Plattenerhitzer erhitzt. Die Platten wurden bei 450 nm gemessen, die Auswertung erfolgte mit der Software CATS 3.15.

2.4.5.3 Festphasenextraktion der Gallensäuren

Die Reinigung der GS-haltigen Proben erfolgte mittels Festphasenextraktion an Bakerbond spe C₁₈ -Kartuschen (3 ml) im Baker spe-12G-System (Fa. J.T. Baker). Zur Aktivierung wurden die Kartuschen zunächst mit 3 ml MeOH und dann mit 10 ml bidest. Wasser gewaschen. Anschließend wurden die Proben aufgetragen. Die GS werden an die Phase gebunden. Die Reinigung erfolgte durch Waschen mit 10 ml bidest. Wasser, 3 ml 10 %igem wässrigem Aceton und erneut mit 10 ml bidest. Wasser. Dann wurden die GS mit zweimal 2 ml MeOH langsam eluiert und im VZ eingedampft, wobei 10 µl Na₂CO₃-Lösung (400 mg/10 ml Wasser) zugesetzt wurden. Die Proben wurden dann im VZ eingedampft.

2.4.5.4 Derivatisierung der Glycinkonjugate und freie Gallensäuren

Zur Bestimmung der freien und der mit Glycin konjugierten GS wurde jeweils eine der parallel aufgearbeiteten Proben mit 100 µl 0,4%iger Na₂CO₃-Lösung versetzt und erneut im VZ eingedampft. Zum Rückstand wurden 100 µl BMC-Lösung (2 mg/ml Acetonitril) und 50 µl 18-Crown-6 (20 mg/ml Acetonitril) gegeben, und es wurde 2 h bei 40 °C unter Schütteln im Thermomixer behandelt. Die Probe (Derivate I) wurde auf 2 ml mit Acetonitril aufgefüllt und zentrifugiert (15 min bei 23100 g und 4 °C). Im Überstand wurden die GS mittels HPLC analysiert.

2.4.5.5 Derivatisierung der Gesamt-Gallensäuren als freie Gallensäuren

Taurinderivate, die wegen der endständigen Sulfatgruppe nicht direkt mit BMC reagieren können, wurden in einer parallelen Probe zunächst mit Cholylglycinhydrolase (Sigma, St. Louis, USA) enzymatisch hydrolysiert und dann in Form der freien GS ebenfalls derivatisiert. Die Proben wurden mit 710 μl Na-Acetatpuffer (pH 5,6) und 100 μl Cholylglycinhydrolase (80 Einheiten/ml 0,005 mmol/l Phosphatpuffer; pH 7,0) versetzt und 40 min bei 37 °C im Wasserbad zur Hydrolyse der Glycin- und Taurineinheiten behandelt. Diese Hydrolysate wurden erneut über eine Festphasenextraktion gereinigt. Zum fast eingedampften methanolischen Eluat wurde Na_2CO_3 -Lösung zugegeben und nach dem Trocknen wie oben beschrieben ebenfalls derivatisiert (Derivat II).

2.4.5.6 Bestimmung der Gallensäuren

Die GS wurden mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion bestimmt. Die BMC-markierten GS wurden an einer unpolaren stationären Phase (Nucleosil 100 Å; C_{18} ; 5 μm ; 250 \times 4,6 mm) bei 40 °C in einer HPLC-Anlage (Gynkotek, Germering) mit dem Online-Degasser DG 1310, der Gradientenpumpe M 480, dem Injektionsautomaten GINA 160, einem Säulenofen (Peltier) und dem Fluoreszenzdetektor RF 1002 (Shimadzu, Duisburg) getrennt. Die Detektion erfolgte bei einer Anregungswellenlänge von 320 nm und einer Emissionswellenlänge von 385 nm. Zur Auswertung und Deutung wurde die Software GynkoSoft eingesetzt. Die auftragstragende Menge betrug 10 bis 50 μl . Es wurden lineare Gradienten aus Acetonitril (30 bis 100 %), Methanol (40 bis 0 %) und Wasser (30 bis 0 %) verwendet. Die Steroide (GS und NS) wurden von folgenden Quellen bezogen (siehe Anhang; Tab. A3-2).

2.4.6 Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren

Die SCFA wurden gaschromatographisch (GC) bestimmt. Dabei wurden die Proben aus den *In-vivo*-Untersuchungen sofort nach ihrer Entnahme weiterverarbeitet. Proben aus den *In-vitro*-Fermentationen wurden zunächst bei –80 °C zwischengelagert. Die flüchtigen SCFA wurden zunächst in ihre lagerstabilen Na-Salze überführt. Vor der gaschromatographische Analyse wurden sie durch Zugabe von Ameisensäure freigesetzt.

Von jeder Probe wurden ca. 350 mg und die vierfache Menge Wasser in ein 2 ml-Eppendorf-Gefäß eingewogen und anschließend homogenisiert. Es wurden zweimal 600 μl dieses Homogenats abgenommen. In einem Anteil wurde die TM mittels Thermo Control (Sartorius, Göttingen) bestimmt. Der zweite Anteil wurde in einem 2-ml-Eppendorf-Gefäß 5 min bei 15000 g und 5 °C zentrifugiert. Vom Überstand wurden 100 μl abgenommen, in 2 ml-Eppendorf-Gefäß (mit Deckel) pipettiert, mit 50 μl *iso*-Buttersäure (als interner Standard) sowie 280 μl HClO_4 (0,36 M), 270 μl NaOH (1 M) versetzt und danach am Vortex gemixt. Diese Proben wurden gefriergetrocknet. Die trocknen Proben wurden mit 200 μl Ameisensäure (5 M) und 800 μl Wasser versetzt und 1 min auf dem Vortex geschüttelt. 1 μl hiervon wurde zur Analyse der SCFA mittels Gaschromatographie aufgetragen.

Die SCFA wurden auf einer HP-FFAP-Säule (30 m × 0,53 mm; 1,0 µm Dicke) unter Anwendung eines Temperaturprogramms in jeweils 2 Parallelproben bestimmt. Das GC-System von Hewlett-Packard (Waldbronn) bestand aus dem HP Chromatographen 5890 Serie II, dem HP 7673 GC/SFC Injector, dem HP GC-Autosampler Controller, einem FID-Detektor und der Software - HP Chemstation. Der Split betrug 1:1. Als Trägergas wurde Helium mit einer Flussrate von 20 ml/min eingesetzt. Luft wurde von einem Kompressor Silent 100 (Schneider, Hamburg) zugefügt und Wasserstoff mit einem Wasserstoffgenerator (Whatman, Göttingen) erzeugt. Die anfängliche Ofentemperatur von 85 °C wurde 0,5 min lang konstant gehalten und zunächst mit einer Rate von 7 °C/min auf 135 °C erhöht und dann mit einer Rate von 70 °C/min auf 160 °C weiter erhöht. Nachdem die Temperatur 4 min bei 160 °C konstant gehalten wurde, erfolgte ebenfalls mit einer Rate von 70 °C/min eine Abkühlung auf 85 °C. Schließlich wurde die Temperatur noch 1 min auf 85 °C konstant gehalten (Gesamtdauer der Analyse: 14,17 min). Die Temperatur des Injektors betrug 200 °C und die des Detektors 260 °C. Die SCFA wurden in µmol/g Feuchtwicht, TM oder Gesamt-Intestinalinhalt berechnet.

2.5 Histologische und immunhistochemische Untersuchungen

2.5.1 Gewinnung und Aufarbeitung der Gewebeproben

Am Ende der Versuchsphase wurden die Tiere dekapitiert. Der Darmtrakt sowie die Leber und die Milz wurden entnommen und gewogen, der Darmtrakt nach Entfernung des Darminhalts vorsichtig abgespült und erneut gewogen. Für die histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen wurden jeweils 0,5 cm proximales und distales Colon in 4%igem frischem Formalin 24 h lang fixiert.

Anschließend wurden die Proben 24 h unter fließendem Leitungswasser gespült und im Entwässerungsautomaten Hypercenter[®] XP (Shandon, Frankfurt) mittels aufsteigender Alkoholkonzentrationen dehydriert und dann über Toluol in Paraffin eingebettet (Paraffinausgießstation Histocenter 2, Shandon) (siehe Anhang; Tab. A3-3)

2.5.2 Färbung der Gewebeschnitte

2.5.2.1 Vorbereitung der Gewebeschnitte

Mittels eines Rotationsmikrotoms HM350 (Microm, Walldorf) erfolgte die Anfertigung von 2 µm dünnen Schnitten, die auf Objektträger aufgezogen und getrocknet wurden.

Das Entparaffinieren, Rehydrieren und Dehydrieren der Schnitte für die histologischen bzw. immunhistochemischen Untersuchungen wurde im Automaten Varistain XY (Shandon, Frankfurt) durchgeführt (siehe Anhang; Tab. A3-4).

2.5.2.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung (H&E-Färbung)

Die H&E-Färbung ist eine Übersichtsfärbung, bei der sich die Zellkerne blauviolett und das Zytoplasma sowie das Bindegewebe und die Muskulatur rot anfärben. Mucine färben sich nicht an und hinterlassen deshalb eine ungefärbte Fläche als Negativbild in den Becherzellen. Die entparaffinierten Schnitte wurden zunächst 1 min in Mayers Hämalaun-Lösung gefärbt, anschließend 5 min mit Leitungswasser gespült und gebläut und 50 s in 1%ige wässrige Eosinlösung eingestellt. Nach Spülen mit dest. Wasser (30 s) wurden die Präparate über aufsteigender Alkoholkonzentration dehydriert (siehe Anhang; Tab. A3-3) und eingedeckt.

2.5.2.3 Alzianblau(2,5)-Perjodsäure-Schiff-Färbung [AB(2,5)-PAS-Färbung]

Die AB(2,5)-PAS-Färbung ist eine Spezialfärbung für die Differenzierung von Glycoproteinen. Beim hier verwendeten pH-Wert von 2,5 färben sich alle sauren Mucine durch das Alzianblau blau, während sich die neutralen nach der Reaktion mit Perjodsäure und Schiffschem Reagenz violett darstellen (Abb. 3.5-1).

Die entparaffinierten und rehydrierten Präparate wurden zunächst 3 min in 3%iger Essigsäure (ES) angesäuert, um die Reaktion ubiquitärer, schwach saurer Gruppen durch ihre Protonierung zu verhindern und dadurch eine unspezifische blaue Hintergrundfärbung zu vermeiden. Anschließend wurden die Gewebeschnitte 30 min in 1% AB in 3%iger ES bei pH 2,5 gefärbt. Nach kurzem Spülen in 3%iger ES und kurzem Nachspülen mit dest. Wasser wurde die PAS-Reaktion durch eine zehnminütige Oxidation mit 1%iger wässriger Perjodsäure begonnen. Dann wurden die Schnitte 2 min in dest. Wasser gespült. Die Präparate wurden für 15 min in Schiffsches Reagenz und dreimal je 2 min in Sulfitwasser getaucht. Nach erneutem Spülen in fließendem Leitungswasser (15 min) erfolgte eine einminütige Gegenfärbung mit Hämalaun. Abschließend wurden die Schnitte noch einmal 5 min in fließendem Leitungswasser gespült, in der aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und eingedeckt (siehe Anhang; Tab. A3-3).



Abb. 3.5-1 Darstellung von Becherzellen mit neutralen und sauren Mucinen nach der AB(2,5)-PAS-Färbung bei einem Kontrolltier im distalen Colon. Neutrale Mucine stellen sich rot dar, während sich saure Mucine blau anfärben.

2.5.2.4 Immunhistochemischer Nachweis des aktiven Caspase 3-Antigens

Um eine Demaskierung der Antikörperbindungsstellen durchzuführen, wurden die rehydrierten Schnitte in der Mikrowelle behandelt. Dazu wurde der Mikrowellenpuffer (DAKO, Hamburg) 180 s lang bei 850 W erhitzt. Die Objektträger wurden in den erhitzten Puffer eingestellt und 180 s bei 850 W in der Mikrowelle inkubiert, dann 15 min im Wasserbad abgekühlt und mit dest. Wasser gespült. Zur Blockierung der endogenen Peroxidase wurden die Schnitte 10 min mit 3 % (v/v) H₂O₂ inkubiert und in Phosphat-gepufferte Salzlösung (PBS) gespült. Die Schnitte wurden mit einem speziellen Stift (DAKO) eingegrenzt, um den Lösungsverbrauch zu vermindern. Zur Blockierung unspezifischer Bindungen wurden die Schnitte 30 min mit Antikörperverdünnungsmedium (AKVM) bei Raumtemperatur inkubiert und kurz in PBS gespült. Die Inkubation mit dem Primärantikörper (anti-aktive Caspase-3; Herkunft: Kaninchen; bekannte Spezies-Reaktivität: Mensch, Maus, Ratte u. a.; Produkt-Nr.: 559565; DB Biosciences, Heidelberg) erfolgte in der Verdünnung 1:1000 in AKVM bei 4 °C über Nacht. Anschließend wurden die Objektträger dreimal je 3 min mit PBST (PBS-Tween 20) und einmal je 3 min mit PBS gewaschen. Die Detektion erfolgte mit einem biotinyliertem Sekundärantikörper (Esel anti-Kaninchen IgG (H+L), Konjugat: Biotin-Spacer; Produkt-Nr.: 711-065-152; Jackson Immuno Research, West Grove, PA, USA) 1:2000 in AKVM für 30 min bei 37°C. Nach vier Waschschritten mit PBST/PBS wurden die Schnitte 30 min bei Raumtemperatur mit Streptavidin-Biotin-Komplex/Meerrettich-Peroxidase (StreptAB-Komplex/POD) inkubiert. Es schlossen sich vier weitere PBST/PBS-Waschschriffe an. Die Schnitte wurden dann ca. 20 s mit Diaminobenzidin gefärbt und sofort in dest. Wasser gespült. Dabei wurde die POD durch ein braunes unlösliches Reaktionsprodukt visualisiert. Anschließend wurden die Schnitte dehydriert und eingedeckt (siehe Anhang; Tab. A3-3).

2.5.3 Auswertung der histologischen Schnitte

2.5.3.1 Mikroskopie und Mikrofotografie

Die Messung der Darmwandstärke, die Zellzählungen und die Fotodokumentation wurden mit Hilfe eines Lichtmikroskops Eclipse E 1000 (Nikon, Düsseldorf) mit differentiellem Interferenzkontrast und Videoausstattung (CCD-1300 CB, Vosskühler) in Kombination mit dem Echtfarbbildanalysesystem LUCIA G (Nikon) vorgenommen.

2.5.3.2 Aufbau der Darmwand

Die Untersuchung der Dicke der einzelnen Schichten der Darmwand erfolgte am H&E-gefärbten Präparat. Es wurden die Tunica mucosae (TMC), Tela submucosa (TS) und Tunica muscularis (TML) gemessen (Abb. 3.5-2).

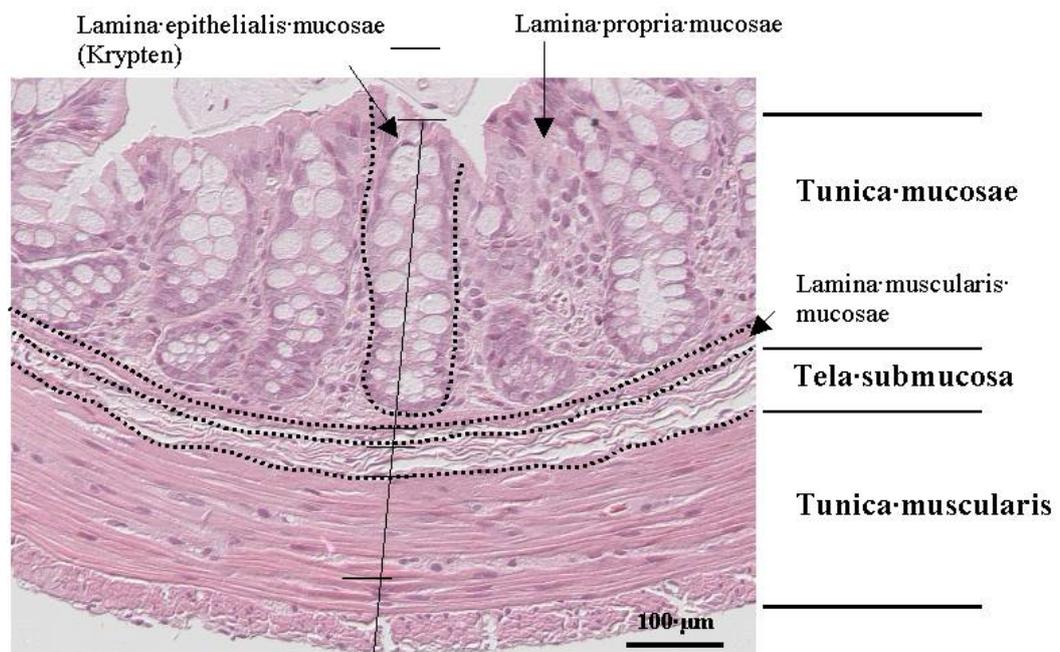


Abb.: 3.5-2: Aufbau der Dickdarmwand am Beispiel eines H&E-gefärbten Gewebeschnittes eines Kontrolltiers im distalen Colon.

Es wurde die kürzeste Linie zwischen der Lamina muscularis mucosae (LMM) (innerer Rand) bis zum Kryptöffnungsniveau gemessen. Die Summe dieser Länge [Lamina epithelialis mucosae (LEM) + Lamina propria mucosae (LPM)] und der Stärke der LMM wurde als Mucosadicke (TMC) definiert. Zur Bestimmung der Stärke der Tela submucosa wurde vom inneren Rand des Stratum circulare bis zur Lamina muscularis mucosae gemessen. Die Dicke der TML wurde als die kürzeste Verbindungslinie zwischen der serosalen Grenze des Stratum longitudinale und der submucosalen Seite definiert. Die Gesamtdicke der Darmwand wurde als die Summe der drei gemessenen Gewebeschichten ermit-

telt. Die Messungen wurden an Schnitten von mindestens acht Tieren pro Futtergruppe durchgeführt. Pro Schnitt wurden dreißig vollständig sichtbare, unverzweigte Krypten ausgewertet.

2.5.3.3 Anzahl der Becherzellen und Mucinzusammensetzung

Die Anzahl der Becherzellen wurde in den mit AB(2,5)-PAS gefärbten Schnitten ermittelt. Für die Auszählung wurden nur die Krypten berücksichtigt, die vollständig sichtbar und gleichmäßig angeschnitten waren. Es wurden die Becherzellen mit violett gefärbten (neutralen) Mucinen und die Becherzellen mit blau gefärbten (sauren) Mucinen gezählt. Becherzellen, die saure und neutrale Mucine enthielten, wurden als neutral mitgezählt, wenn der blaue Anteil weniger als ein Drittel des gesamten Mucinpfropfes betrug. Es wurden dreißig Krypten pro Tier ausgewertet.

2.5.3.4 Anzahl der proliferierenden Zellen

Die Auszählung der proliferierenden Zellen wurde an Hämatoxylin-gefärbten Schnitten vorgenommen. Es wurden alle Zellen, die sich in der späten Prophase, Metaphase, Anaphase oder Telophase befanden, gezählt. Dafür wurden dreißig Krypten pro Tier ausgewertet, die vollständig sichtbar und zentral angeschnitten waren, so dass zwei deutlich getrennte Epithelreihen ausgezählt werden konnten.

2.5.3.5 Anzahl der apoptotischen Zellen

Die apoptotischen Zellen wurden mittels eines Antikörpers gegen die aktive Caspase-3 immunhistochemisch detektiert. Es wurden alle Zellen innerhalb der Krypten gewertet, die eine braune Immunfärbung aufwiesen. Es wurden dreißig Krypten pro Tier ausgewertet, die vollständig angeschnitten waren.

2.5.4 Verwendete Chemikalien, Lösungen und Verbrauchsmaterialien

Die verwendeten Chemikalien sind in Tab. A3-5 (siehe Anhang) zusammengestellt. Nicht extra aufgelistete Chemikalien wurden von Merck, Sigma oder Roth bezogen. Alle verwendeten anorganischen Salze, Säuren, Basen und organischen Lösungsmittel hatten p.a.-Qualität. Folgende Lösungen wurden für die histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen verwendet:

<i>AB(2,5)-Lösung:</i>	1 g Alzianblau; 3 ml 100 % Essigsäure; 97 ml dest. Wasser
<i>1% Eosinlösung:</i>	10 g Eosin; 1000 ml dest. Wasser; 300 µl 100 %ige Essigsäure
<i>PBS; pH 7,4:</i>	137 mM Natriumchlorid; 2,7 mM Kaliumchlorid; 8,1 mM Kaliumdihydrogenphosphat; dest. Wasser
<i>PBST:</i>	PBS 0,2 % (v/v) Tween 20
<i>Mayers Hämalaun aus Hämatoxylin:</i>	1 g Hämatoxylin; 1000 ml dest. Wasser; 200 mg Natriumjodat; 50g Kalialaun; 50 g Chloralhydrat; 1 g Zitronensäure
<i>Sulfitwasser:</i>	18 ml 10%iges Natriumsulfid; 300 ml dest. Wasser; 15 ml 1M Salzsäure

Verbrauchsmaterialien wie Einbettkassetten, Microtom-Klingen, Objektträger und Deckgläser wurden von Engelbrecht (Edermünde) bezogen.

3 Ergebnisse

Die Ergebnisse umfassen die technologischen Untersuchungen zur Herstellung von extrudierten und autoklavierten Haferproben, die analytische Charakterisierung der eingesetzten Haferprodukte, die *In-vitro*-Untersuchungen sowie die physiologischen Wirkungen der Haferprodukte im Fütterungsversuch an Ratten und in einem Ernährungsversuch am Menschen.

3.1 Charakterisierung der Haferprodukte (technologische Versuche)

Die Zusammensetzungen der wichtigsten in den Versuchen zur Optimierung der Extrusion eingesetzten Haferprodukte unterschieden sich deutlich in ihrem Gehalt an BS, Rohprotein, Gesamtfett und Stärke. So war die Haferkleie reich an löslichen und unlöslichen BS, β -Glucan, unverdauliche Oligosaccharide, Protein und Fett aber arm an Stärke. Das Haferstärkemehl enthielt dem gegenüber viel Stärke, aber wenig BS und Protein. Die Gehalte an β -Glucan variierten zwischen 1,9 und 8,5 %. RS war nur in sehr geringen Mengen in einigen Gruppen nachzuweisen (Tab. 4.1-1). Durch Extrusion unter den angegebenen Bedingungen konnten Haferproben mit guten sensorischen Eigenschaften hergestellt werden, die direkt verzehrt werden können.

Es war nicht möglich, deutlich hohe Konzentrationen an RS in Gemischen aus Hafer und amylosereichen Stärken während der Extrusion zu generieren. Die Ergebnisse sind tabellarisch in Tab. A4-1 in Anhang zu finden.

Tab.: 4.1.-1: Zusammensetzung von Haferprodukten

Komponente (g/100 g)	Haferprodukt					
	Haferkerne (gedarrt)	Hafer Sorte „Marion“	Hafer Sorte „Hecht“	Hafer Sorte „Kanton“	Hafer- stärkemehl	Hafer- kleie
Feuchte	10,0	6,9	7,6	7,5	10,7	10,3
Asche	1,6	2,0	1,9	4,6	1,1	3,6
Rohprotein ¹	11,6	16,2	14,5	13,5	11,4	18,9
Gesamtfett	6,2	8,2	6,1	5,4	5,9	9,1
Stärke	61,4	54,0	57,5	54,6	63,9	38,3
Unlösliche BS	5,8	7,5	8,6	8,3	3,2	12,9
Lösliche BS	2,6	5,0	4,6	4,4	0,6	7,3
Gesamt-BS ²	8,4	12,5	13,2	12,7	3,8	20,2
NDO	0,9	0,7	0,7	1,7	1,2	2,0
β -Glucan	3,5	5,1	4,3	4,2	1,9	8,5
RS	0,3	0,1	0,4	0	0,4	0

¹ N \times 6,25; ² Summe aus unlöslichen und löslichen Ballaststoffen (BS); NDO = nicht-verdauliche Oligosaccharide (engl.: non-digestible oligosaccharides); RS = resistente Stärke.

Auch bei Optimierung der Extrusionsbedingungen (Temperatur, Feuchte, Drehzahl, Schneckenkonfiguration, Düse) lagen Gehalte an RS unter 1,0 %. Eine deutliche Menge an RS trat bei Anreicherung von Hafer mit Amylomaistärke (5,4 % mit Hylon VII und 4,4 % mit Eurylon 7) auf. Ein 20%iger Zusatz der kommerziellen, an resistenter Stärke reichen Präparate Novelose 240 und 330 zum Hafer resultierte ebenfalls in hohen Gehalten an RS in den Extrudaten (siehe Anhang, Tab. A4-1). Es zeigte sich hierbei, dass die RS der Novelose 240 weniger „extrusionsstabil“ als die der Novelose 330 war.

Eine Einwirkung von Pullanase (partielle enzymatische Entzweigung von Amylopektin) oder von Citronensäure (partielle Depolymerisierung der Stärke-Polysaccharide) auf Hafer vor und während der Extrusion bzw. eine Zugabe von Dextrin führten zu keiner wesentlichen Erhöhung des RS-Gehaltes in den Extrudaten.

Der spezifische mechanische Energieeintrag (SME) in die Präparate (Extrudate) war relativ klein (siehe Anhang, Tab. A4-1) und stand in den meisten Fällen in keinem systematischen Zusammenhang mit der Zusammensetzung des Prämixes oder der Bildung von RS.

Es wurde weiterhin der Einfluss des Autoklavierens auf die Bildung von RS untersucht. Weil der Autoklaviervorgang über einen wesentlich längeren Zeitraum als der kurzzeitige Extruder-Durchlauf erfolgt, findet auch die Energieübertragung (thermische Energie) über einen längeren Zeitraum statt.

Nach zweimaligem Autoklavieren (je 1 h) verschiedener Haferprodukte bei 140 °C und 25 % Gutfeuchte wurden folgende RS-Gehalte in den Proben gefunden: Haferschrot 6,0 %, Haferstärkemehl 5,5 %, Haferkleie 2,5 %, Sorte „Marion“ 6,0 %, Sorte „Hecht“ 7,3 % und Sorte „Kanton“ 9,3 %. Diese Werte wurden in Extrudaten gefunden, die mit Novelose angereichert waren. Es entstanden beim Autoklavieren von Backhaferkleie 2,5 % RS - trotz eines hohen Fettanteils von 9,1 % und eines geringen Stärkeanteils von nur 38,3 %.

Es wurde beobachtet, dass eine Bildung von RS oberhalb von 1 % erst bei Temperaturen von ≥ 130 °C bei einstündigem Autoklavieren auftrat (siehe Anhang; Abb. A4-1). Beispielsweise wurden nach dem Autoklavieren bei 145 °C ab einer Temperierdauer von 0,5 h ca. 4 bis 6% RS gemessen (Gebhardt *et al.*, 2004).

Die Einleitung der thermischen Energie während des Autoklavierens bewirkt eine starke Degradation der Polysaccharide einschließlich der Stärke. Diese äußert sich auch im charakteristischen Rückgang der Konsistenz während des Autoklavierens. Tab. 4.1-2 zeigt die maximale und die Endkonsistenz der Brabender-Viskogramme sowie die Temperatur bei der maximalen Konsistenz in autoklavierten Haferproben. Es gibt offensichtlich einen Zusammenhang zwischen der partiellen Depolymerisation der Stärke-Polysaccharide und der Menge an gebildeter RS.

Tab. 4.1-2: Auswertung der Brabender-Viskogramme der autoklavierten Haferproben

Autoklavier- bedingungen	Maximale Konsistenz BE	Temperatur bei max. Konsistenz (°C)	Endkonsistenz BE
unbehandelt	1409	91,9	1343
100 °C, 1 h	1268	88,4	1329
130 °C, 2 h	118	94,6	342
140 °C, 1 h	51	94,6	147
145 °C, 0,5 h	79	38,5	230
145 °C, 1 h	33	34,2	68
145 °C, 2 h	16	30,2	21

BE = Brabender-Einheiten

Weiterhin erhöhte sich der Gehalt an RS mit der Anzahl der Autoklavierzyklen (siehe Anhang; Abb. A4-2). Wie Untersuchungen mit den sortenreinen Haferproben zeigen, verdoppelte bis verdreifachte sich der Anteil an RS nach dem zweiten Zyklus.

Insgesamt zeigte sich, dass die Bildung von RS während der Lebensmittelzubereitung oder während technologischer Prozesse nicht allein auf die Retrogradation aus überschüssigem Wasser beschränkt ist, sondern auch bei unvollständiger Hydratation eintritt und dass die Kristallisation aus der Schmelze nach dem Extrudieren zur Bildung von resistenter Stärke genutzt werden kann.

Auf Grundlage der Ergebnisse aus diesen Untersuchungen wurden die Proben für die *In-vitro*- und *In-vivo*-Untersuchungen bereitet.

Die technologischen Untersuchungen erfolgten im Institut für Getreideverarbeitung GmbH (Institut für Lebensmittel- und Umweltforschung) Nuthetal.

3.2 *In-vitro*-Untersuchungen

3.2.1 Zusammensetzung der Extrudate für die *In-vitro*-Untersuchungen

Für die *In-vitro*-Untersuchungen wurde eine Serie von Extrudaten hergestellt, die aus Hafermehl (Hafer), Haferkleie und Novelose[®] 330 bestanden (Tab. 3.1-1).

Die Gehalte an β -Glucan, RS sowie an löslichen und unlöslichen Ballaststoffen in diesen Extrudaten sind in Tab. 4.2-1 zusammengestellt. Im extrudierten Hafermehl (Probe M) wurde nur ein geringer Anteil an RS gefunden. Durch Zusatz von 20 % Novelose[®] 330 wurden etwa 8,5-9,0 % RS in die Extrudate eingebracht. Diese Konzentration steht in Beziehung zum RS-Gehalt der Novelose[®] 330 von 45 %. Das extrudierte Hafermehl besaß etwa 1,5 % lösliche und 7,0 % unlösliche BS. Durch Zugabe von 20 % Novelose[®] 330 und Kleie erhöhten sich besonders die unlöslichen BS und die Gesamt-BS in den Extrudaten. Weiterhin wurde eine Zunahme des β -Glucans mit steigendem Kleie-Anteil im Extrudat erreicht.

Tab. 4.2-1: Gehalt an β -Glucan, resistenter Stärke (RS) und Ballaststoffen (BS) in den Extrudaten aus Hafermehl (M), Haferkleie (K) und Novelose[®] 330 (N) für die *In-vitro*-Experimente.

Extrudat	β -Glucan (%)	RS (%)	lösliche BS (%)	unlösliche BS (%)	Gesamt-BS (%)
M	4,29	0,43	1,54	6,89	8,43
MN	4,55	8,30	1,63	11,58	13,21
MKN1	5,36	9,01	3,03	13,21	16,24
MKN2	5,67	9,02	4,01	15,29	19,30
KN	7,09	8,69	2,12	18,72	20,84

Zusammensetzung der Extrudate: M = 100 % M; MN = 80 % M/20 % N; MKN1 = 62,6 % M/17,4 % K/20 % N; MKN2 = 40 % M/40 % K/20 % N; KN = 80 % K/20 % N.

Die Extrudate sollten später besonders zur modellmäßigen Untersuchung von Effekten, die sich im Dünn- und Dickdarm ereignen, eingesetzt werden. Deshalb wurden hierfür die Extrudate in verdauter Form verwendet. Durch die simulierte Verdauung *in vitro* wurden 17,5 bis 48,0 % der Masse der Original-Extrudate - in Abhängigkeit von ihrer Zusammensetzung - abgetrennt. Dieser Masseverlust beruht vor allem auf der Abtrennung von verdaulicher Stärke. In den verdauten Extrudaten waren die Anteile an β -Glucan und RS höher als in den Original-Extrudaten (Tab. 4.2-2). Werden jedoch diese Werte unter Berücksichtigung der Ausbeute wieder auf die Original-Extrudate bezogen, dann zeigte sich ein Verlust von bis zu 20 % bei RS und zu einem Drittel bei β -Glucan, insbesondere als Folge der Aufarbeitung der Proben nach der Verdauung (Tab. 4.2-2).

Tab. 4.2-2: Ausbeute sowie Gehalt an β -Glucan und resistenter Stärke (RS) in den verdauten Extrudaten für die *In-vitro*-Experimente

Extrudat (verdaut)	Ausbeute (%) ¹	β -Glucan (%)	RS (%)	β -Glucan (%) ¹	RS (%) ¹
M	52,00	5,53	0,20	2,88	0,10
MN	62,30	4,69	11,29	2,92	7,03
MKN1	67,80	7,83	10,91	5,30	7,40
MKN2	69,80	6,08	11,46	4,24	8,00
KN	82,50	7,25	8,32	5,98	6,86

¹bezogen auf die Original-Extrudate

3.2.2 Wasserbindung

Die Wasserbindung wird von verschiedenen strukturellen Faktoren der Ballaststoffe beeinflusst. Nach der Baumann-Methode (Robertson *et al.*, 2000) wurde in den Original-Extrudaten M und MN, die für die *In-vitro*-Untersuchungen präpariert wurden, eine Wasserbindungskapazität (WBK) um 4,7 g H₂O/g Probe bestimmt (Abb. 4.2-1). Diese Präparate wurden aus Hafermehl bzw. Hafermehl und Novelose bereitet. In den Haferkleie enthaltenden Extrudaten wurde eine geringere Wasserbindung gemessen. Die Wasseraufnahme war in weniger als 10 min beendet, d.h. auch nach längeren Messzeiten veränderten sich die Werte nicht mehr.

Die verdauten Extrudate besaßen eine deutlich geringere WBK. Diese lag zwischen 2,2 und 2,7 g H₂O/g Probe. Das weist darauf hin, dass die abgetrennte verdauliche Stärke einen wesentlichen Beitrag für die Wasserbindung der Original-Extrudate liefert (Abb. 4.2-1).

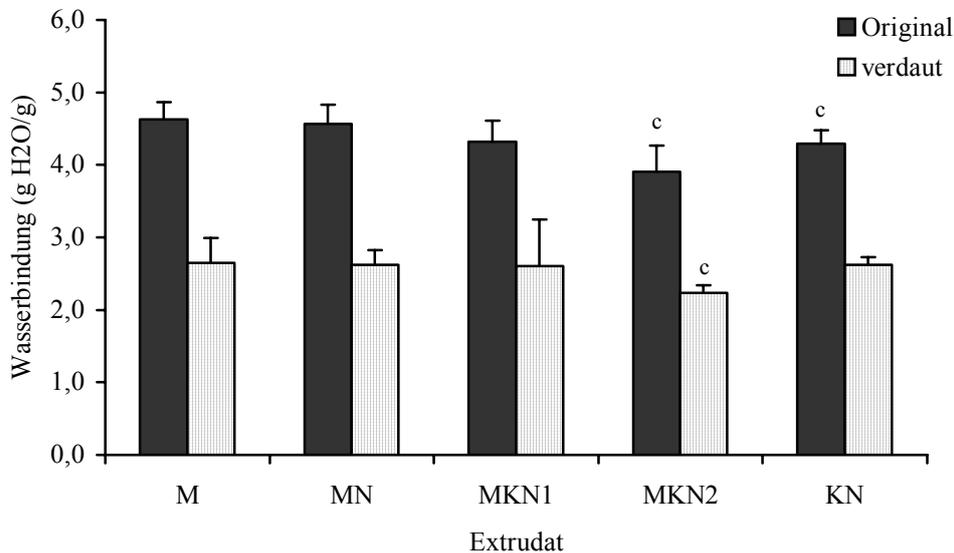


Abb. 4.2-1: Wasserbindung der Original-Extrudate und der verdauten Extrudate. Mittelwerte \pm SD; $n = 6$; ^c $P < 0,05$ gegenüber Extrudat M.

3.2.3 Beeinflussung der Stärkeverdauung *in vitro* durch Haferextrudate

Es wurde geprüft, wie BS-reiche Haferextrudate auf eine simulierte Verdauung reagieren. Maisstärke als eine vollständig verdauliche Stärke wurde bis zu 2 h allein oder in Gegenwart der verdauten Extrudate mit Pankreatin abgebaut. Bei Anwesenheit aller verdauten Extrudate war der Abbau der Maisstärke vermindert ($P < 0,003$) (Abb. 4.2-2). Es gab aber keinen signifikanten Unterschied in der Wirksamkeit zwischen den untersuchten Extrudaten.

Diese partielle Hemmung des Stärkeabbaus mittels Pankreatin stieg mit zunehmender Konzentration der Extrudate ($P < 0,003$) an (siehe Anhang; Abb. A4-3). Unter den angewendeten Versuchsbedingungen war der Stärkeabbau um etwa 20 % vermindert.

Die Freisetzung von Glucose verminderte sich nach einstündiger Inkubation von 100 mg Maisstärke allein mit Pankreatin (37 °C; pH 5,2) von $5,81 \pm 0,22$ g/l auf $5,52 \pm 0,08$ bzw. $4,83 \pm 0,76$ g/l beim Stärkeabbau in Gegenwart von 50 bzw. 100 mg Alkohol-unlösliche Substanz (AUS) ($P < 0,05$) und auf $4,98 \pm 0,16$ bzw. $4,74 \pm 0,49$ g/l beim Stärkeabbau in Gegenwart von 100 bzw. 250 mg Pektin ($P < 0,001$). Diese Ergebnisse zeigen, dass die BS-Komponenten aus den Haferextrudaten ähnlich den BS-Komponenten aus Obst oder Gemüse auf die Glucosefreisetzung aus verdaulicher Stärke beeinflussen.

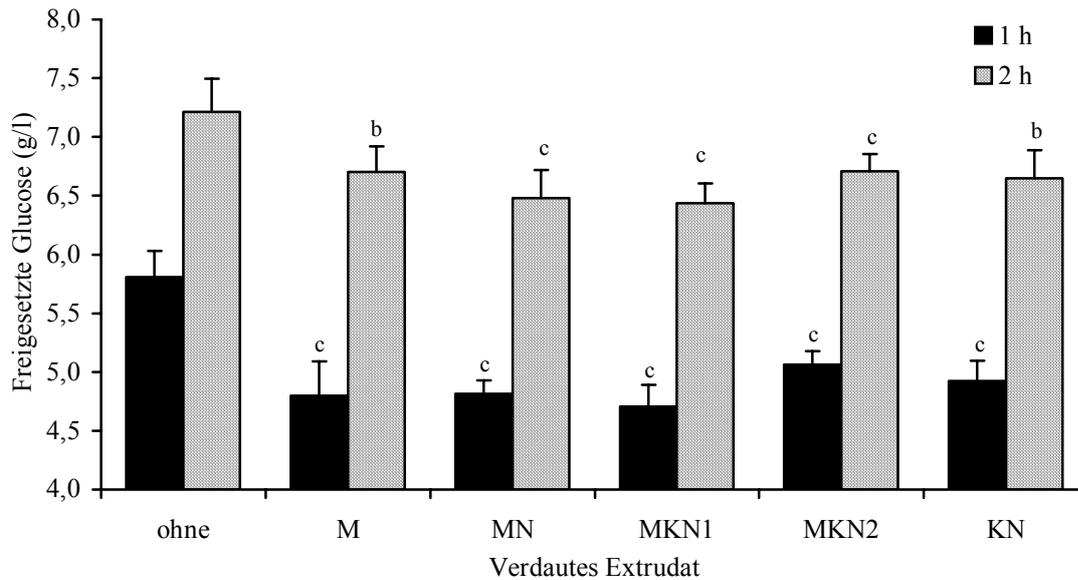


Abb. 4.2-2: Einfluss der verdauten Haferextrudate (500 mg) auf den Abbau von Maisstärke (100 mg) mit Pankreatin (1 bzw. 2 h bei 37 °C und pH 5,2). Mittelwerte \pm SD; $n = 8$; ^b $P < 0,005$; ^c $P < 0,001$ gegenüber dem Versuch ohne Extrudat.

3.2.4 Bindung von Gallensäuren

Es wurde untersucht, ob und in welchem Umfang Wechselwirkungen zwischen GS und den Extrudaten aus Hafer auftreten. Hierzu wurden zwei der drei wichtigsten GS, die in der Gallenflüssigkeit des Menschen auftreten, die Glycocholsäure (GCA), eine Trihydroxy-GS (OH-Gruppen an den C-Atomen 3, 7 und 12 des Steroidgerüsts), und die Glycochenodesoxycholsäure (GCDC), eine Dihydroxy-GS (OH-Gruppen an den C-Atomen 3 und 7 des Steroidgerüsts), ausgewählt (Kap. 1.3.7.1). Die Carboxylgruppe dieser GS sind mit der Aminosäure Glycin konjugiert (amidiert). Es wurde bei pH-Werten von 5,0 und 6,5 gearbeitet, die für den oberen bzw. unteren Teil des Dünndarms im Speisebrei typisch sind.

Unter den verwendeten Bedingungen (Inkubation von 100 mg der verdauten Extrudate in 10 ml 0,5 mM GS-Lösung; 2 h bei 37 °C) wurden starke Wechselwirkungen zwischen den verdauten Extrudaten und den konjugierten GS gefunden. Die Konzentration an GS in den Überständen war nach der Inkubation mit den Haferprodukten und vorsichtigem Zentrifugieren signifikant geringer. Tab. 4.2-3 zeigt den prozentualen Anteil an gebundenen GS. Es wird deutlich, dass das Ausmaß der Wechselwirkungen sowohl vom pH-Wert als auch von der Struktur der GS beeinflusst werden. In Gegenwart aller eingesetzten verdauten Extrudate war jeweils die Bindung der Dihydroxy-Gallensäure größer als die der Trihydroxy-Gallensäure. Weiterhin war die Bindung der GS an die verdauten Extrudate bei pH 5,0 jeweils intensiver als bei pH 6,5. Ein systematischer Einfluss der Zusammensetzung der Extrudate war bei dieser Darstellungsweise nicht feststellbar.

Tab. 4.2-3: Wechselwirkungen zwischen Glycocholsäure bzw. Glycochenodesoxycholsäure und verdauten Haferextrudaten

Gallen-säure	pH-Wert	Anteil der gebundenen Gallensäuren (%) an die Extrudate*				
		M	MN	MKN1	MKN2	KN
GCA	5,0	82,6 ± 1,25	83,2 ± 1,31	81,7 ± 0,35	85,5 ± 1,16	90,3 ± 0,67
GCA	6,5	75,2 ± 2,26	73,4 ± 1,17	74,6 ± 0,36	78,4 ± 0,52	82,7 ± 1,15
GCDC	5,0	92,0 ± 0,47	90,1 ± 1,09	86,9 ± 0,46	89,9 ± 1,07	92,8 ± 1,16
GCDC	6,5	82,1 ± 0,91	77,7 ± 1,74	77,7 ± 0,31	84,1 ± 0,82	87,7 ± 0,86

*Alle Werte sind signifikant unterschiedlich von den jeweiligen Kontrollen bei Abwesenheit von Gallensäuren ($P < 0,001$). Mittelwerte \pm SD; $n = 6$. GCA = Glycocholsäure, GCDC = Glycochenodesoxycholsäure.

Der Einfluss der BS-Zusammensetzung der Extrudate auf die Wechselwirkungen mit GS wird deutlich, wenn die Messwerte nicht auf die gleiche Menge an verdautem Extrudat (wie in Tab. 4.2-3) sondern auf die jeweiligen Original-Extrudate bezogen werden. Unter den gewählten Bedingungen wurden mehr als 40 % der GS an die Extrudate gebunden (Abb. 4.2-3). Alle Versuche in Gegenwart der Extrudate waren signifikant unterschiedlich von den Kontrollen. Auch in dieser Darstellungsweise wurden die jeweils größeren Mengen an gebundenen GS beim tieferen pH-Wert gemessen ($P < 0,001$). Zusätzlich zeigte sich, dass sich die Wechselwirkungen der GS mit den Extrudaten erhöhten, wenn diese mehr Novelose und/oder Haferkleie enthielten. Am wirksamsten zur Bindung von Gallensäuren war das Extrudat KN, das zu 80 % aus Haferkleie bestand. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass die gewachsene botanische Struktur, die nach der Verdauung in Kleie besser erhalten ist als im Mehl einen positiven Einfluss auf die Wechselwirkungen mit Gallensäuren ausübt. Verglichen mit dem Extrudat aus Hafermehl waren alle anderen Extrudate zu einer signifikant höheren Bindung von GS fähig (Abb. 4.2-3). In jedem Fall waren die Wechselwirkungen zwischen den verdauten Extrudaten und GCDC intensiver als die mit GCA ($P < 0,02$).

Die Reihenfolge der GS-Bindung zu den Haferextrudaten war:

GCDC bei pH 5,0 > GCA bei pH 5,0 > GCDC bei pH 6,5 > GCA bei pH 6,5.

Das Ausmaß der GS-Bindung stieg mit dem Anteil an Gesamt-BS, unlöslichen BS sowie an β -Glucan - jedoch nicht an löslichen BS - in den Extrudaten.

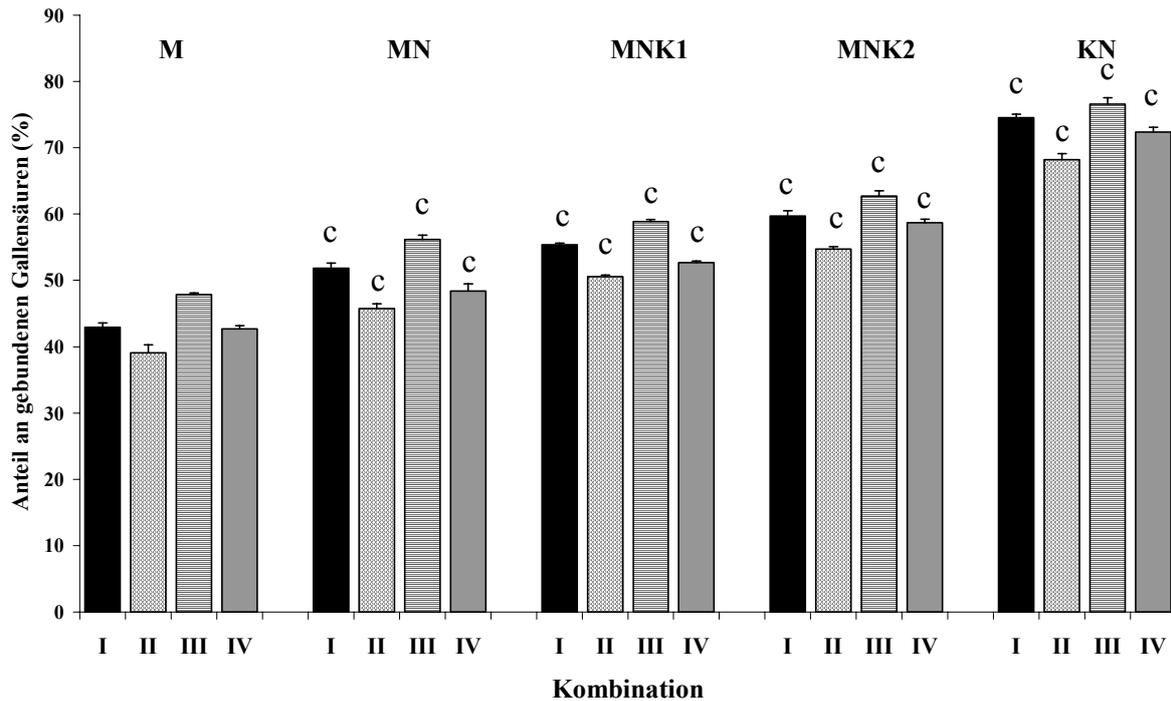


Abb. 4.2-3: Prozentualer Anteil der gebundenen Glycocholsäure (GCA) bzw. Glycochenodesoxycholsäure (GCDC) an die verdauten Extrudate. Die Werte sind auf die Original-Extrudate bezogen. (Kombinationen: I = GCA bei pH 5,0; II = GCA bei pH 6,5; III = GCDC bei pH 5,0; IV = GCDC bei pH 6,5). Mittelwerte \pm SD, $n = 6$; $^{\circ} P < 0,001$ gegenüber Extrudat M.

Es wurde berechnet, wieviel GS mit 100 g Original-Extrudat unter den gewählten Messbedingungen in Wechselwirkung treten können (Tab. 4.2-4). Wenn man die gefundenen Werte auf einen Verzehr von 100 g Extrudat pro Tag hochrechnet, so kann mit einem Transport von ca. 2 (bis 4) mmol GS aus dem Dünndarm in den Dickdarm gerechnet werden. Der Gallensäuren-Pool des Menschen beträgt etwa 5 g. Das Molekulargewicht von GCA ist etwa 500, d.h. 5 g GS entsprechen ca. 10 mmol. Demnach wäre mit den Extrudaten ein deutlicher Anteil an GS aus dem Dünndarm entfernbar.

Tab. 4.2-4: Kalkulation der Wechselwirkungen zwischen Gallensäuren und 100 g Haferextrudat (auf der Basis der *In-vitro*-Experimente)

Gallen-säure	pH-Wert	Wechselwirkungen (mmol Gallensäure/100 g Extrudat)				
		M	MN	MKN1	MKN2	KN
GCA	5,0	2,15 \pm 0,02	2,59 \pm 0,02	2,77 \pm 0,01	2,99 \pm 0,02	3,73 \pm 0,01
GCA	6,5	1,95 \pm 0,03	2,29 \pm 0,02	2,53 \pm 0,01	2,74 \pm 0,01	3,41 \pm 0,02
GCDC	5,0	2,39 \pm 0,01	2,81 \pm 0,02	2,95 \pm 0,01	3,14 \pm 0,02	3,83 \pm 0,02
GCDC	6,5	2,13 \pm 0,01	2,42 \pm 0,02	2,64 \pm 0,01	2,94 \pm 0,01	3,62 \pm 0,02

Mittelwerte \pm SD; $n = 6$.

3.2.5 Bildung von SCFA bei der Fermentation der Extrudate

Es ist wichtig, dass in Fermentierungsversuchen mit Substraten, die verdauliche Bestandteile (Stärke, Proteine, Lipide) enthalten, eine Verdauung vorgeschaltet wird. Verdauliche Stärken, die normalerweise im Dickdarm nicht mehr vorhanden sind, bilden ein ausgezeichnetes Substrat für die Fermentation. Es wurde frische Faecesflora von 3 Probanden verwendet. Die Untersuchungen erfolgten über einen Zeitraum bis zu 8 h. Die Befunde wurden zunächst auf die eingesetzte Menge an Substrat (15 mg) berechnet. Es ist zu beachten, dass bereits nach null Stunden eine bestimmte Menge an SCFA anwesend ist. Acetat, Propionat und Butyrat sind die wichtigsten Metabolite der Fermentation. Valeriate sind Endprodukte des Proteinabbaus. In Tab. 4.2-5 ist die Bildung der SCFA für die Fermentation von 3 ausgewählten verdauten Extrudaten mit Faecesflora vom Probanden 1 zusammengefasst. In dieser Darstellungsweise scheint das Extrudat M die besten präbiotischen Eigenschaften zu haben, die sich in einer hohen SCFA-Bildung widerspiegeln.

Weiterhin verändern sich die molaren Verhältnisse zwischen den einzelnen SCFA während der Fermentation. Dieser Effekt ist in Abb. 4.2-4 am Beispiel der Fermentation des verdauten Extrudats MKN1 mit der Faecesflora vom Probanden 2 dargestellt.

Während sich der molare Anteil an Acetat im Verlauf der Fermentation verminderte, erhöhten sich die Anteile an Butyrat. Nach 6 und 8 h war der Anteil an Butyrat signifikant erhöht ($P < 0,05$). Die Anteile an Propionat veränderten sich demgegenüber nicht während der *In-vitro*-Fermentation. Die kontinuierliche Zunahme des Butyratanteils ist aus physiologischer Sicht ein erwünschter Effekt.

Weiterhin wurde die Bildung der SCFA auf der Basis der Original-Extrudate kalkuliert. Es zeigte sich, dass die Menge und Zusammensetzung der gebildeten SCFA sowohl von der individuellen bakteriellen Flora als auch von der BS-Zusammensetzung der Extrudate abhängt. Die höchsten Acetat- und Gesamt-SCFA-Konzentrationen wurden in dieser Darstellungsweise gefunden, wenn die Kleie-haltigen Extrudate fermentiert werden. Die Butyratbildung war am stärksten mit der Faecesflora vom Probanden 1. Dagegen war die Faecesflora der Probanden 2 und 3 dazu in der Lage, signifikant mehr Propionat ($P < 0,05$) zu produzieren. Es soll nur erwähnt werden, dass die höchsten *iso*- und *n*-Valeriatmengen auftraten, wenn die Faecesprobe vom Probanden 2 eingesetzt wurden. Die berechneten Werte sind für alle Extrudate und die Faecesflora von allen Probanden nach einer Fermentationszeit von 8 h in (siehe Anhang, Tab. A4-2) zusammengefasst.

Die durchschnittlichen molaren Verhältnisse von Acetat, Propionat und Butyrat aller zur Fermentation eingesetzter Extrudate nach 8 h sind in Abb. 4.2-5 in Abhängigkeit von den Faecesproben der drei Probanden dargestellt. Es zeigte sich, dass unabhängig vom verwendeten Substrat bei Einsatz der Faecesflora vom Probanden 1 die gebildeten Anteile von Acetat und Butyrat höher und diejenigen von Propionat niedriger waren ($P < 0,05$).

Tab. 4.2-5: Bildung von SCFA während der Fermentation ausgewählter verdauter Extrudate mit der Faecesflora vom Probanden 1.

Extrudat (verdaut)	Zeit (h)	Acetat	Propionat	Butyrat	<i>iso</i> -Valeriat	<i>n</i> -Valeriat	Summe
		(μmol SCFA/15 mg verdautes Substrat)					
M	1	11,84 ± 1,87	1,08 ± 0,13	4,13 ± 0,66	0,18 ± 0,06	0,31 ± 0,03	17,52 ± 2,69
	2	18,17 ± 2,40*	2,19 ± 0,21*	6,94 ± 0,73*	0,31 ± 0,03*	0,61 ± 0,06*	28,07 ± 3,42*
	4	22,15 ± 2,23*	3,07 ± 0,23*	8,93 ± 0,67*	0,44 ± 0,06*	0,91 ± 0,06*	35,48 ± 3,18*
	6	27,46 ± 0,94*	4,21 ± 0,15*	10,83 ± 1,06*	0,56 ± 0,09*	0,82 ± 0,64	43,87 ± 2,49*
	8	23,27 ± 1,59*	4,29 ± 0,18*	11,13 ± 0,68*	0,63 ± 0,02*	1,32 ± 0,03*	40,63 ± 2,34*
MKN2	1	7,70 ± 0,52	0,70 ± 0,11	3,11 ± 0,17	0,09 ± 0,03	0,20 ± 0,02	11,79 ± 0,81
	2	10,81 ± 0,70*	1,18 ± 0,10*	4,58 ± 0,16*	0,15 ± 0,02*	0,33 ± 0,03*	16,98 ± 0,93*
	4	15,14 ± 1,41*	1,85 ± 0,14*	7,29 ± 0,59*	0,25 ± 0,03*	0,55 ± 0,05*	25,07 ± 2,11*
	6	16,08 ± 1,90*	2,11 ± 0,28*	8,19 ± 0,93*	0,29 ± 0,04*	0,65 ± 0,09*	27,32 ± 3,20*
	8	21,71 ± 0,54*	2,83 ± 0,09*	10,77 ± 0,40*	0,34 ± 0,02*	0,83 ± 0,03*	36,47 ± 1,02*
KN	1	9,86 ± 0,49	0,69 ± 0,05	3,92 ± 0,18	0,11 ± 0,01	0,20 ± 0,02	14,78 ± 0,47
	2	14,71 ± 2,77*	1,42 ± 0,26*	6,53 ± 0,87*	0,19 ± 0,04*	0,42 ± 0,08*	23,27 ± 4,00*
	4	16,52 ± 0,94*	1,85 ± 0,03*	8,16 ± 0,07*	0,20 ± 0,01*	0,53 ± 0,01*	27,26 ± 0,99*
	6	15,92 ± 0,75*	1,91 ± 0,21*	8,60 ± 0,30*	0,21 ± 0,05*	0,60 ± 0,04*	27,23 ± 1,22*
	8	19,81 ± 1,50*	2,44 ± 0,20*	11,08 ± 0,31*	0,27 ± 0,05*	0,75 ± 0,06*	34,33 ± 2,01*

Mittelwerte ± SD; $n = 4$. ^a $P < 0,05$ gegenüber den SCFA-Konzentrationen nach 1 h.

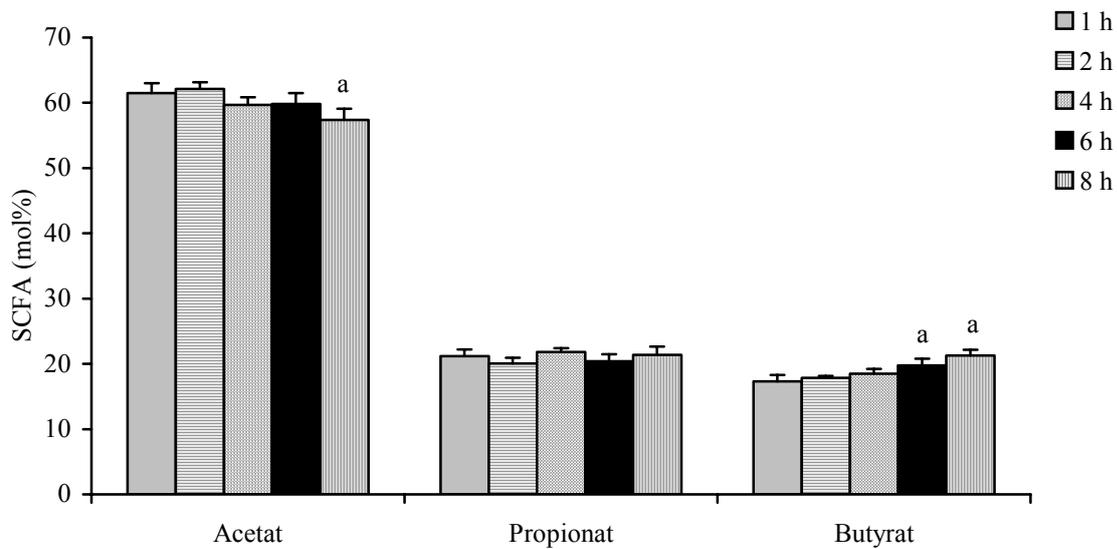


Abb. 4.2-4: Veränderungen in den molaren Verhältnissen der wichtigsten SCFA während der Fermentation des verdauten Extrudates MKN1 mit Faecesflora vom Probanden 2. Mittelwerte \pm SD; $n = 4$. ^a $P < 0,05$ gegenüber der SCFA-Konzentration nach 1 h.

Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass neben der Zusammensetzung der fermentierbaren BS auch die Zusammensetzung der individuellen Mikroflora einen wesentlichen Einfluss auf die Fermentationsrate hat.

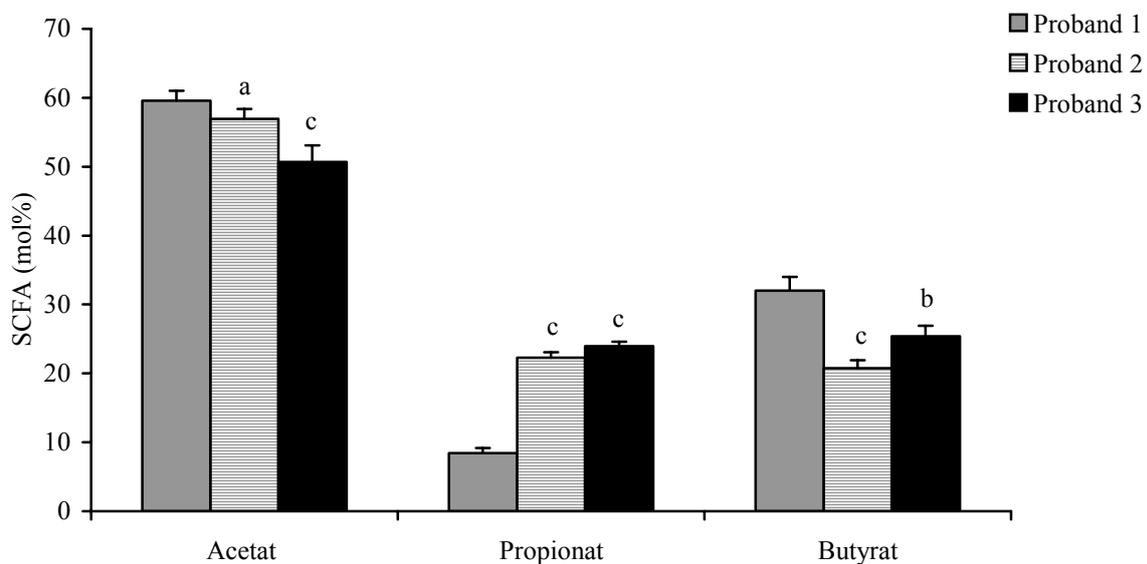


Abb. 4.2-5: Einfluss der individuellen Faecesflora (3 Probanden) auf die durchschnittlichen molaren Verhältnisse der wichtigsten SCFA bei der Fermentation der verdauten Hafextrudate (8 h). Alle Werte sind auf die Original-Extrudate bezogen. Mittelwerte \pm SD; $n = 5$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Proband 1.

Schließlich wurden die Durchschnittswerte für die gebildeten einzelnen SCFA aus den verschiedenen Extrudaten für die Faecesflora der 3 Probanden betrachtet (Fermentationszeit: 8 h). Die Produktion von Acetat, Butyrat und der Gesamt-SCFA war höher, wenn die Extrudate weniger Hafermehl aber mehr Haferkleie, lösliche und unlösliche BS sowie β -Glucan enthielten (Abb. 4.2-6).

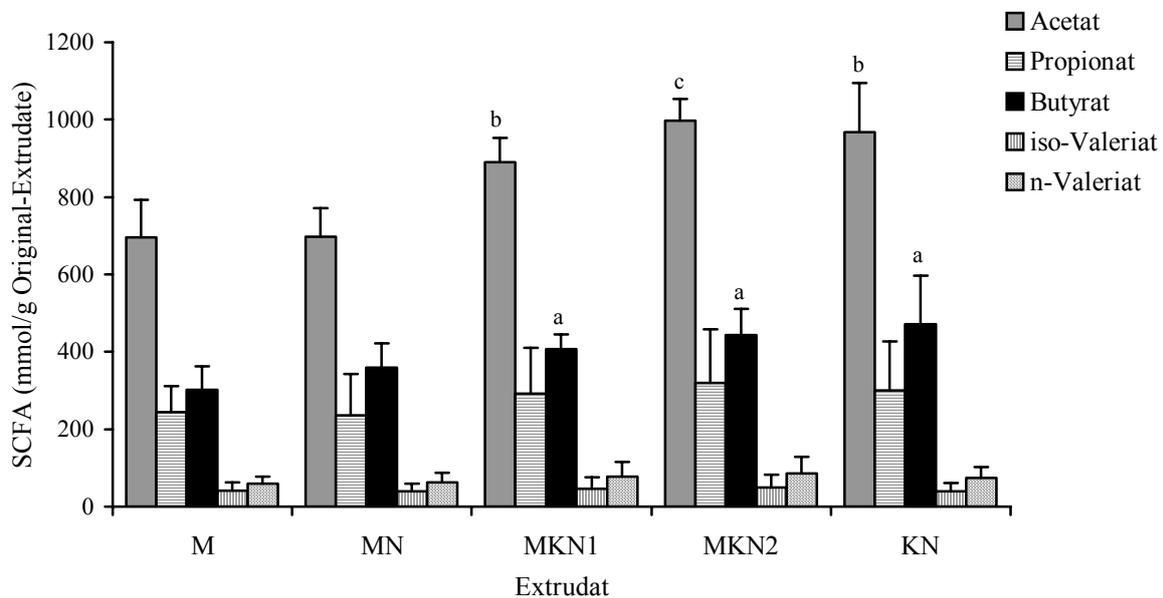


Abb. 4.2-6: Durchschnittliche Konzentrationen an SCFA nach 8 h Fermentation der verdauten Haferextrudate mit Faecesflora von 3 Probanden. Alle Werte sind auf die Original-Extrudate bezogen. Mittelwerte \pm SD; $n = 5$.

^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Extrudat M.

3.3 Zusammensetzung und funktionelle Eigenschaften der Versuchsmaterialien für die *In vivo*-Untersuchungen

Für die *In vivo*-Untersuchungen wurden neben Extrudaten auch ein autoklaviertes Produkt sowie die Haferkleie in unbehandeltem Zustand eingesetzt.

3.3.1 Zusammensetzung der Versuchsmaterialien

In den Extrudaten und Produkten (Tab. 3.1-2) wurden folgende BS bzw. BS-Fractionen analysiert: β -Glucan, RS, unverdauliche Oligosaccharide (NDO), lösliche BS, unlösliche BS sowie Gesamt-BS. Die Ergebnisse sind in Tab. 4.3-1 zusammengestellt. β -Glucan war in allen Produkten vorhanden, während RS nur in den Extrudaten MN und KN sowie in der autoklavierten Probe M# vorkam. Die Produkte enthielten sowohl lösliche als auch unlösliche Ballaststoffe. Der Gesamt-BS-Gehalt lag in den Extrudaten und Produkten zwischen ca. 10 und 24 %, wobei die kleiehaltigen Proben den höchsten BS-Gehalt aufwiesen.

Tab. 4.3-1: Zusammensetzung der Extrudate bzw. Produkten (in %) für die *In vivo*-Untersuchungen

Extrudat/Produkt	M	MN	K ^a	KN	M# ^b
Ballaststoffe (in %)					
β-Glucan	4,1	3,0	9,2	6,9	3,9
Resistente Stärke	0,4	12,8	0,5	11,4	5,8
NDO ^c	3,2	2,7	1,3	1,8	1,8
Lösliche Ballaststoffe	3,9	2,6	9,0	5,0	4,7
Unlösliche Ballaststoffe	4,7	5,5	12,9	10,0	3,3
Gesamt-Ballaststoffe ^d	11,8	10,8	23,2	16,8	9,8
Weitere Kennwerte (in %)					
Trockenmasse	89,0	89,9	88,7	89,7	91,2
Asche	1,8	1,5	3,8	2,9	1,8
Fett	6,1	5,0	8,9	5,9	6,2
Protein	15,9	12,9	19,2	16,4	14,5
Stärke	58,6	56,7	36,9	43,5	52,9

^a nicht extrudiert; ^b autoklaviert; ^c NDO = unverdauliche Oligosaccharide, (engl.: non-digestible oligosaccharides); ^d Summe aus löslichen und unlöslichen Ballaststoffen sowie NDO; Werte sind Mittelwerte ($n = 2-6$).

Durch das Autoklavieren wurden fast 6 % RS generiert (Probe M#). Die Produkte unterschieden sich auch im Gehalt an Fett, Protein und Stärke (Tab. 4.3-1).

3.3.2 Funktionelle Eigenschaften der Versuchsmaterialien

3.3.2.1 Wasserbindung

In Tab. 4.3-2 ist die Wasserbindung der Extrudate und Produkte für die *In-vivo*-Untersuchungen (bestimmt mit der Kapillarsaugmethode) zusammengestellt. Ein Gramm dieser Produkte war in der Lage, zwischen 2,6 und 5,7 g H₂O zu binden. Es zeigte sich, dass extrudiertes Hafermehl das höchste Wasserbindungsvermögen aufweist. Signifikant weniger Wasser wurde von der unbehandelten Haferkleie gebunden (Probe K). Nach der Extrusion der Kleie verbesserte sich die Wasserbindung. Die autoklavierte Probe M# zeigte eine geringe Wasserbindung.

Tab. 4.3-2: Wasserbindung der Extrudate bzw. Produkte für die *In-vivo*-Untersuchungen

Extrudat M	Extrudat MN	Probe K	Extrudat KN	Probe M#
5,69 ± 0,20	4,59 ± 0,18	2,88 ± 0,29	4,63 ± 0,19	2,57 ± 0,16

Mittelwerte ± SD; $n = 6-7$.

3.3.2.2 Säure-Extrakt-Viskosität

Die Säure-Extrakt-Viskosität wurde direkt in Extrakten, die aus den Extrudaten und Proben, die für die *In-vitro*-Untersuchungen eingesetzt werden, erhalten wurden, mit dem Ubbelohde-Viskosimeter bei $25,0 \pm 0,1$ °C bestimmt und als spezifische Viskosität angegeben (Tab. 4.3-3). Die Bedingungen während der Extraktion sollen auch die Magenpassage der Haferprodukte simulieren und so einen Kennwert für die Viskosität, die im Dünndarm auftreten kann, darstellen. Insgesamt zeigte sich, dass der Extrakt aus der nicht-extrudierten Haferkleie K die höchste Viskosität aufwies, während der Extrakt aus der autoklavierten Probe M# niederviskos war.

Tab. 4.3-3: Säure-Extrakt-Viskosität der Extrudate bzw. Produkte für die *In-vivo*-Untersuchungen

Extrudat M	Extrudat MN	Probe K	Extrudat KN	Probe M#
66,50	(11,69)*	164,43	44,13	3,51

*Unregelmäßigkeiten bei der Messung

Die Viskosität von β -Glucanlösungen hängt von der Feinstruktur des Polysaccharids ab und mit seiner Löslichkeit zusammen. Diese steht auch mit der Vorbehandlung der Getreideprobe und der Art der Getreideprobe in Zusammenhang (z. B. Hafer oder Gerste, Mehl oder Kleie).

3.3.2.3 Molekulargewicht der β -Glucane

Das Molekulargewicht M_w der extrahierten β -Glucane aus den Extrudaten und Produkten, die für die *In-vivo*-Untersuchungen eingesetzt werden, wurde aus der Grenzviskosität unter Anwendung der Schröder-Konstante sowie mittels der Mark-Houwink-Gleichung berechnet. In Übereinstimmung mit der Literatur wurden die Konstante $k = 0,00067$ und der Exponent $a = 0,75$ verwendet (Vårum *et al.*, 1991). Die Ergebnisse sind in Tab. 4.3-4 zusammengestellt.

Tab. 4.3-4: Molekulargewichte M_w der β -Glucane aus den Haferextrudaten und –produkte

β -Glucan aus	Extrudat M	Extrudat MN	Probe K	Extrudat KN	Probe M#
Grenzviskosität [η] (ml/g)	362	500	465	462	221
M_w^1 (kDa)	603	833	775	770	368
M_w^2 (kDa)	94,8	145,8	132,4	131,2	49,1

¹ berechnet mittels Schröder-Konstante; ² berechnet mittels der Mark-Houwink-Gleichung und [η] in dl/g

Alle β -Glucane besaßen ein hohes Molekulargewicht (Ausnahme: β -Glucan aus der autoklavierten Probe).

3.3.3 Rheologische Charakterisierung von β -Glucanpräparaten aus den Haferprodukten

In den oberen Intestinaltrakt liegt ein Anteil der β -Glucane in gelöster Form vor und kann viskose Systeme ausbilden, die physiologische Effekte bewirken können. Deshalb wurden aus folgenden Haferproben, die auch für die Fütterungsversuche an Ratten eingesetzt wurden, β -Glucanpräparate durch wässrige Extraktion und nach enzymatischem Stärke- und Proteinabbau gewonnen: extrudiertes Hafermehl M, autoklaviertes Hafermehl M# und Haferkleie K. Diese Extrakte enthielten 52,98 %, 63,53 % bzw. 61,93% β -Glucan (bezogen auf die Originalsubstanz). Es konnten unter den gewählten Extraktions- und Aufarbeitungsbedingungen etwa 50 % der in den Haferproben anwesenden β -Glucane gewonnen werden.

Die β -Glucanpräparate wurden in Wasser unter zweimaligem Erhitzen auf 90 °C (20 min) und Vortex-Behandlung gelöst. Die Konzentration der Lösungen wurde auf 2 bzw. 4 % β -Glucan eingestellt. Alle Lösungen waren während der Messungen stabil und homogen.

Es wurde in Modellversuchen das komplexe Fließverhalten dieser β -Glucanpräparate mittels Oszillations- und Schermessungen ermittelt. Ferner wurden die dynamischen Moduli wie das Speichermodul G' , das Verlustmodul G'' und der Verlustwinkel $\tan \delta$ im Frequenz- und Amplitudensweep gemessen bzw. berechnet. Aus diesen Untersuchungen Aussagen zur Strukturbildung der β -Glucanlösungen gewonnen werden. Die rheologischen Eigenschaften viskoser BS können das Fließ-, Diffusions- und sonstige Transportverhalten beim Verdauungsvorgang im Dünndarm beeinflussen.

3.3.3.1 Frequenzsweep

Die Strukturbildung von Makromolekülen oder Partikeln in einem dispersen System kann durch Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften mittels Oszillationsmessungen beschrieben werden. Während der Messung bleibt die native Struktur unter den gewählten Belastungen im viskoelastischen Bereich erhalten. Aus dem Anstieg und dem Verlauf der Kurven für das Speichermodul G' (elastisches Verhalten) und das Verlustmodul G'' (viskoses Verhalten) ist es möglich, Rückschlüsse auf die Art des gemessenen Systems zu ziehen. So kann zwischen einer Sol/Lösung, einer gelartigen Struktur oder einem Dispersionspartikelsystem unterschieden werden. Ein Schnittpunkt der Kurven von G' und G'' ist beispielsweise ein Hinweis auf die Ausbildung einer Gelstruktur.

Die Auswertung der Messungen erfolgte vorwiegend Frequenzbereich zwischen 0,01 und 10 Hz. Das Speichermodul der β -Glucanproben aus dem extrudierten Mehl und aus der Haferkleie erhöhte sich kontinuierlich mit steigender Frequenz (Abb. 4.3-1). Das jeweils höhere Speichermodul wurde bei einer β -Glucankonzentration von 4 % gefunden. Diese Proben besaßen ein dominant viskoses Verhalten im gesamten gemessenen Frequenzbereich. Das β -Glucanpräparat aus dem autoklavierten Hafermehl zeigte in einer Konzentration von 2 % keinen derartigen Einfluss der Frequenz auf G' .

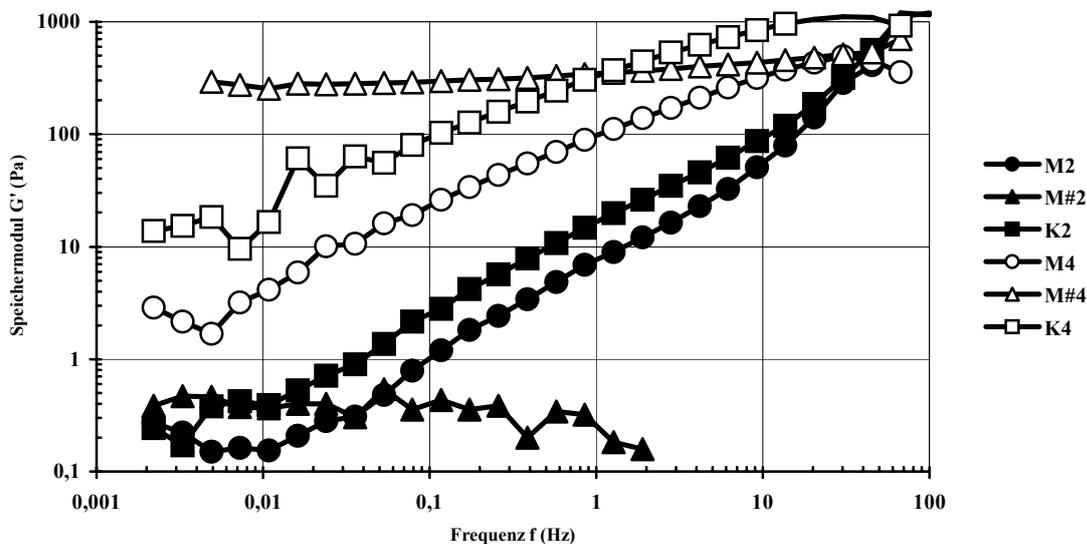


Abb. 4.3-1: Speichermodul G' im Frequenzsweep der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 bzw. 4 %.

Bei der Untersuchung des Verlustmoduls G'' wurden besonders in den Proben M2, K2 und M4 viskose Eigenschaften im vermessenen Frequenzbereich gefunden. Mit Ausnahme der Proben M#4 und K4 handelte es sich um Materialien mit quasi Festkörpercharakteristik (Abb. 4.3-2). Die Zunahme von G'

und G'' mit steigender Frequenz weist zudem auf eine molekulare Abhängigkeit der Netzwerkbildung von den Messbedingungen hin.

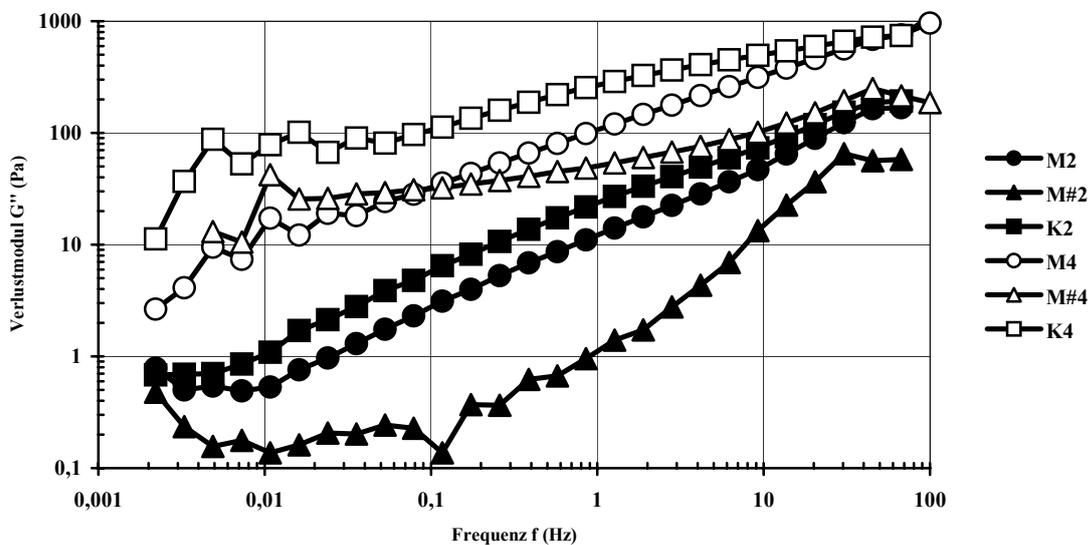


Abb. 4.3-2: Verlustmodul G'' im Frequenzsweep der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 bzw. 4 %.

Der Verlustwinkel $\tan \delta$ ist als Quotient von G' und G'' definiert. Je größer der Verlustwinkel ist, desto höher ist die zum viskosen Fließen unter externer Belastung dissipierte Energie. Der berechnete Verlustwinkel lag in einem größeren Frequenzbereich bei den Proben M2, K2, M4 und K4 unterhalb von 1 und deutet deshalb auf dominant viskose Eigenschaften. Die elastischen Eigenschaften dieser Proben verstärkten sich jedoch mit steigender Frequenz. In der autoklavierten Probe M#4 wurden nur elastische Eigenschaften gefunden (siehe Anhang, Abb. A4-4).

Die komplexe Viskosität $|\eta^*|$ aller Proben verminderte sich in doppeltlogarithmischer Darstellung mit zunehmender Frequenz (siehe Anhang, Abb. A4-5). Bei der Probe M#4 handelte es sich um eine hochviskose Lösung. Die Messkurven der Proben K4 und M4 zeigten einen mehr asymptotischen Verlauf. Es wird vermutet, dass diese β -Glucanpräparate Gele bilden, wenn ihre Konzentration weiter erhöht wird. Bei einer Frequenz von 0,01 Hz ergab sich folgende Reihenfolge für die komplexe Viskosität zwischen den Proben:

$$M\#4 \gg K4 \gg M4 \gg K2 > M2 > M\#2.$$

Eine ähnliche Reihenfolge zwischen den Proben wurde auch für das Speichemodul G' ermittelt.

3.3.3.2 Amplitudensweep

Das Speichermodul G' wurde im Amplitudensweep überraschenderweise nicht durch die Deformation beeinflusst (Abb. 4.3-3). Die strukturbildenden β -Glucanmoleküle sind offenbar derart stark in eine viskose Matrix von sich permanent reproduzierenden elektrostatischen und hydrophilen Wechselwirkungen eingebunden, dass diese Struktur im untersuchten Deformationsbereich nicht zerstört wird. Eine Ausnahme von diesem Verhalten zeigte Probe M#2. Auch das Verlustmodul G'' der β -Glucanproben, die aus dem extrudierten Hafermehl und aus der Kleie isoliert wurden, war von der verwendeten Deformation γ unabhängig (siehe Anhang; Abb. A4-6).

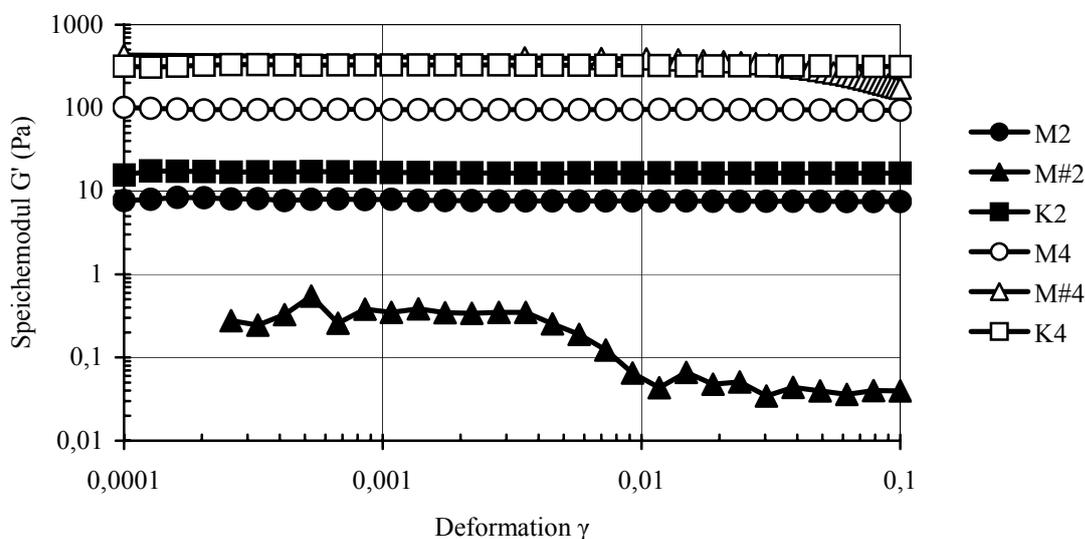


Abb. 4.3-3: Speichermodul G' im Amplitudensweep der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 bzw. 4 %.

Weiterhin wurde mit Ausnahme von Probe M#2 der Verlustwinkel $\tan \delta$ von der Deformation im Bereich $\gamma < 0,01$ beeinflusst (siehe Anhang; Abb. A4-7). In den β -Glucanproben K4 und M#4 lag der Verlustwinkel unterhalb von 1. Die komplexe Viskosität $|\eta^*|$ aller Proben war im Amplitudensweep unabhängig von der Deformation (siehe Anhang, Abb. A4-8).

Zwischen den β -Glucanproben wurde folgende Reihenfolge gefunden:

$$K4 = M\#4 \gg M4 \gg K2 > M2 \gg M\#2.$$

3.3.3.3 Scherversuche

In den Scherversuchen erwiesen sich erwiesen sich K4 und M4, gefolgt von M#4, als die mechanisch stabilsten Proben (Abb. 4.3-4).

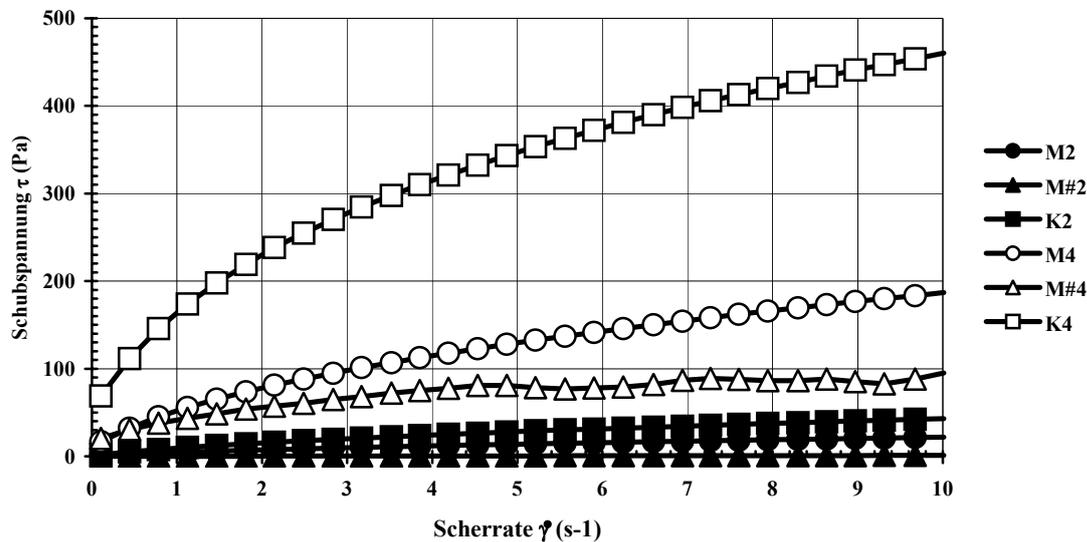


Abb. 4.3-4: Fließkurven der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 sowie 4 %.

Proben, die 2 % β -Glucan enthielten, besaßen im untersuchten Bereich eine geringere Schubspannung. Die kleinsten Werte wurden in der Probe M#2 gefunden. Die höchste Scherviskosität $\eta(\dot{\gamma})$ bei einer Schergeschwindigkeit von $0,1 \text{ s}^{-1}$ ergab sich bei der Messung von Probe K4 und die geringste in der Probe M#2 (siehe Anhang, Abb. A4-9). Die Reihenfolge zwischen den Proben war dieselbe wie bei der Darstellung der Schubspannung in Abhängigkeit von der Scherrate.

Bei den untersuchten β -Glucanproben handelte es sich generell um strukturviskose nicht-Newtonsche Flüssigkeiten mit einem durchweg rheostabilen Verhalten. Als geeignetes Modell zur Beschreibung der gemessenen Lösungen ist der Potenzansatz von Ostwald und de Waele (Gleichung 4)

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad \text{in Pa} \quad (4),$$

wobei K der Konsistenzfaktor und der Exponent n der Fließindex sind. Modelle mit Fließgrenze, wie die von Herschel-Bulkley und von Casson, zeigten Fließgrenzen in der Größenordnung des Messfehlers bzw. negative Werte an. Bei Anwendung des OSTWALD/DE WAELE-Modells wurden Korrelationskoeffizienten $> 0,999$ gefunden (siehe Anhang; Tab. A4-3). Die große Thixotropiefläche bei der Probe M#4 weist auf Scherverdünnungseffekte (mechanische Instabilität) hin.

Wie der Fließindex n zeigt, war die Probe M#4 gegenüber mechanischer Belastung am höchsten strukturiert ($n = 1$, Strukturlosigkeit; $n = 0$, idealer Festkörper).

Insgesamt ergab sich, dass die rheologischen Eigenschaften der Präparate wurden sowohl von der Quelle des β -Glucans, als auch von der lebensmitteltechnischen Vorbehandlung und der Konzentration beeinflusst. Die β -Glucanlösungen aus extrudiertem Hafermehl und Haferkleie zeigten in Oszillationsversuchen ein dominant viskoses Verhalten. Diese Untersuchungen geben Hinweise für die Erklärung der Beeinflussung des Fließ, Diffusions- und Transportsverhalten im Dünndarm in Gegenwart viskoser BS wie der β -Glucane.

3.4 Fütterungsversuch an Ratten

3.4.1 Charakterisierung der Futterproben

Das Kontrollfutter (Gruppe S) enthielt gemäß Tab. 3.1-3 63,0 % Weizenstärke. Die Diäten aller Versuchsgruppen enthielten demgegenüber 50 % der Haferprodukte. Diese Substitution erfolgte auf Kosten der Weizenstärke. Tab. 4.4-1 zeigt die analysierten Kennwerte, einschließlich der BS-Werte, in den Futterproben.

Tab. 4.4-1: Zusammensetzung der Futterproben (in %)

Futter	S	M	MN	K ^a	KN	M# ^b
Ballaststoffe						
β-Glucan	0	2,0	1,5	4,6	3,0	1,9
Resistente Stärke	0,4	0,2	5,8	0,1	5,3	3,1
NDO ^c	1,3	2,9	3,2	1,9	2,6	2,2
Lösliche Ballaststoffe	0,4	2,3	2,8	4,9	2,9	2,8
Unlösliche Ballaststoffe	7,3	9,6	8,5	13,7	12,3	8,9
Gesamt-Ballaststoffe ^d	9,0	14,8	14,5	20,5	17,8	13,9
Weitere Kennwerte						
Trockenmasse	91,3	90,2	90,6	90,0	90,5	91,3
Asche	4,2	5,1	4,1	6,1	5,7	5,1
Fett	3,4	6,5	7,2	7,8	6,4	6,5
Protein	18,5	24,9	23,3	28,1	26,7	25,7
Stärke	54,5	40,5	40,3	29,7	33,0	37,7

^a nicht extrudiert; ^b autoklaviert; ^c NDO = non-digestible oligosaccharides; ^d Summe aus löslichen und unlöslichen Ballaststoffen sowie NDO; Werte sind Mittelwerte ($n = 2-6$).

Erwartungsgemäß wurde in den Futterproben, die Novelose (MN, KN) bzw. das autoklavierte Produkt (M#) enthielten, die höchsten Gehalte an RS gefunden. Der höchste Gehalt an NDO wurde im Novelose-haltigen Futter MN bestimmt. Im Vergleich zu den Haferextrudaten und -produkten wurden in den meisten Versuchsfutterproben ca. 60 % der löslichen BS und 80 bis 100 % der unlöslichen BS (unter Berücksichtigung der zugesetzten mikrokristallinen Cellulose) wiedergefunden. Ein Anteil der löslichen BS-Fraktion erscheint offenbar in der NDO-Fraktion. Die Futterproben enthielten bis zu 20,5 % Gesamt-BS.

3.4.2 Befinden der Tiere während des Versuchs

Der Allgemeinzustand der Tiere während des Versuchs war gut. Alle Futterproben wurden von den Ratten gut akzeptiert. Die Tiere zeigten kein auffälliges Verhalten. Es traten keine Erkrankungen oder Todesfälle während des Versuchs auf.

3.4.3 Futter- und Wasseraufnahme sowie Gewichtsentwicklung

Der Futtermittelverzehr während des Versuchszeitraums ist in der Tab. 4.4-2 zusammengestellt. Er erhöhte sich deutlich in der 2. Woche und stieg dann in den meisten Gruppen gering weiter bis zur 5. Woche. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe S und den Versuchsgruppen. Die durchschnittliche Futteraufnahme war jedoch in den Versuchsgruppen K und M# im Trend höher als in den übrigen Gruppen.

Tab. 4.4-2: Futtermittelverzehr (in g) von der 1. bis zur 6. Woche pro Tiergruppe ($n = 10$).

Gruppe	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5	Woche 6
S	90,81	121,83	113,33	134,14	135,43	119,70
M	92,97	113,29	107,57	127,08	127,05	109,05
MN	89,02	110,75	108,54	125,32	130,74	117,04
K	99,17	126,27	119,15	137,33	138,79	122,38
KN	94,02	115,96	109,33	127,95	127,87	111,66
M#	106,29	131,32	120,92	144,75	144,57	126,50

Die durchschnittliche Futteraufnahme (alle Gruppen) betrug pro Tier: 1. Woche $9,68 \pm 0,12$ g; 2. Woche $12,14 \pm 0,16$ g; 3. Woche $11,44 \pm 0,13$ g; 4. Woche $13,38 \pm 0,17$ g; 5. Woche $13,54 \pm 0,21$ g und 6. Woche $11,91 \pm 0,17$ g. Die durchschnittliche Gesamt-Futteraufnahme während des Experiments pro Tier war $70,06 \pm 0,17$ g (Mittelwerte \pm SEM; $n = 70$).

Die Wasseraufnahme pro Tiergruppe und Woche während des Versuchs zeigt Abb. 4.4-1.

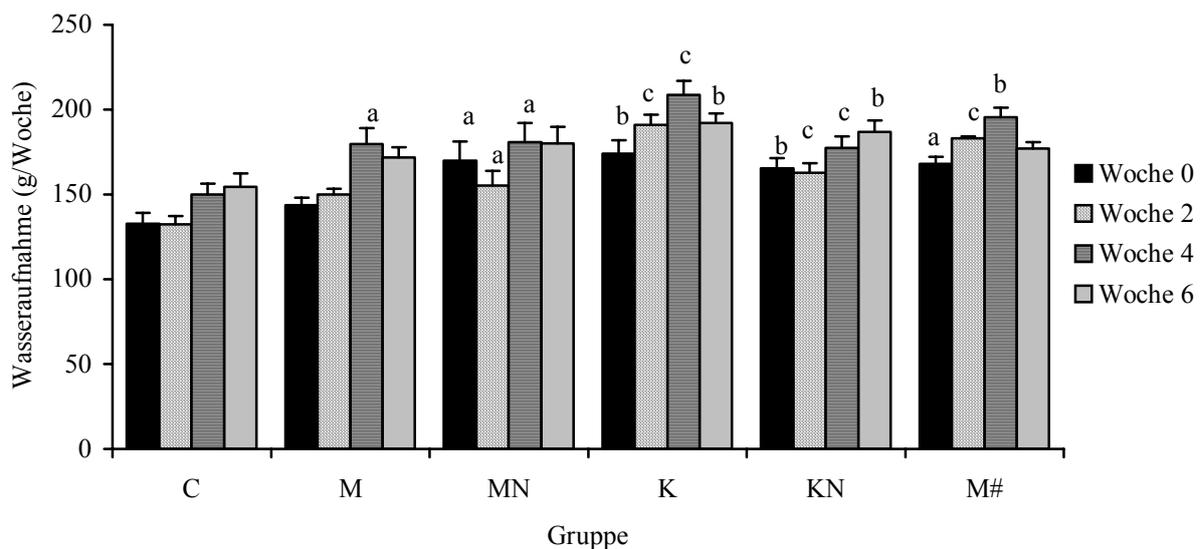


Abb. 4.4-1: Wasseraufnahme von der 1. bis zur 6. Woche pro Tiergruppe. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

In allen Versuchsgruppen wurden im Trend oder signifikant höhere Wassermengen aufgenommen. Dieses ist vermutlich ein Resultat der höheren Wasserbindung der BS-reichen Versuchsfutterproben.

Es ist auffallend, dass der Verzehr des mit Haferkleie angereicherten Produkts (Gruppe K) von der höchsten Wasseraufnahme begleitet wurde.

Die Gewichtsentwicklung der Tiere während des Versuchs ist in Abb. 4.4-2 zusammengefasst. In allen Gruppen wurde eine normale Gewichtsentwicklung festgestellt. Das Wachstum der Tiere verlief annähernd gleich. Mit wenigen Ausnahmen (besonders in Gruppe K) wurde kein Einfluss der Supplementierung des Kontrollfutters S durch 50 % der Haferextrudate und –produkte in den Versuchsgruppen ermittelt. Das durchschnittliche Körpergewicht der Tiere betrug vor Versuchsbeginn in der 0. Woche $86,25 \pm 0,55$ g. Folgende durchschnittliche Gewichtsentwicklung (alle Gruppen) wurde während des Experiments festgestellt; Gewichtszunahme (alle Gruppen) betrug pro Tier: 1. Woche $127,83 \pm 1,06$ g; 2. Woche $166,33 \pm 1,38$ g; 3. Woche $212,50 \pm 1,78$ g; 4. Woche $243,03 \pm 2,23$ g; 5. Woche $276,26 \pm 2,68$ g und 6. Woche $303,85 \pm 3,25$ g. Das durchschnittliche Gewicht der Tiere erhöhte sich von der 0. bis zur 6. Woche um $218,42 \pm 3,42$ g (Mittelwerte \pm SEM; $n = 70$).

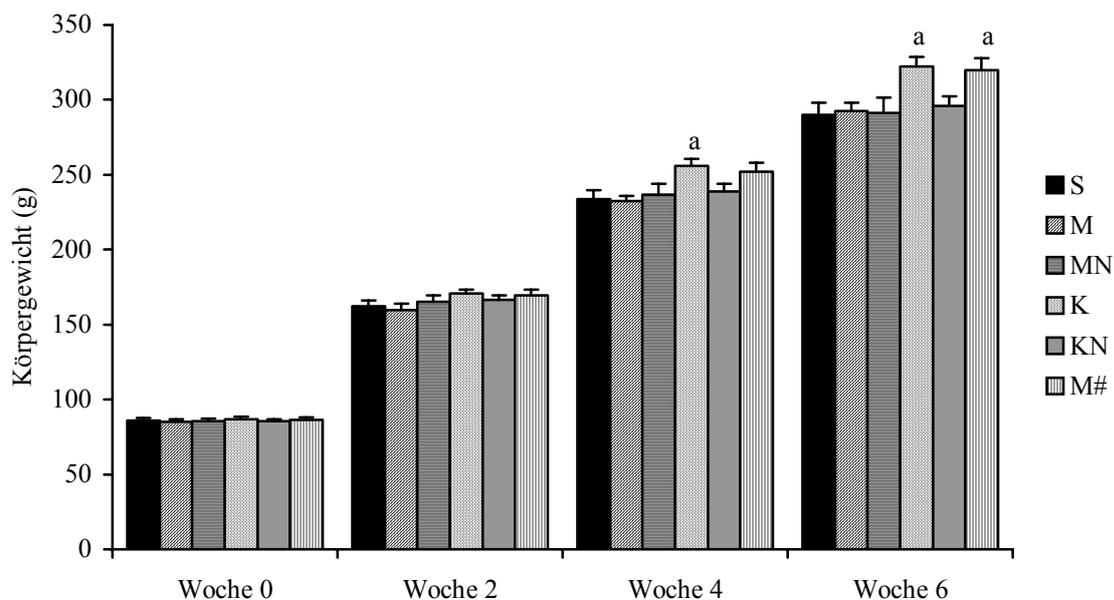


Abb. 4.4-2: Gewichtsentwicklung der Ratten während des Versuchs. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$ gegenüber Kontrollgruppe S.

3.4.4 Serumlipide

Die Serumlipide wurden zum Versuchsbeginn sowie in der 3. und 6. Woche ermittelt. In der 0. Woche wurden folgende Parameter bestimmt: $2,12 \pm 0,04$ mmol/l Gesamt-Cholesterol, $1,60 \pm 0,03$ mmol/l HDL-Cholesterol, $0,48 \pm 0,01$ mmol/l LDL-Cholesterol und $0,49 \pm 0,03$ mmol/l Triglyceride (Mittelwerte \pm SEM; $n = 70$).

In Tab. 4.4-3 sind die Veränderungen in den Konzentrationen bei Gesamt- und LDL-Cholesterol sowie bei den Triglyceriden zwischen der 0. und der 6. Woche zusammengestellt. Da die Tiere keine erhöhten Serumlipidspiegel besaßen, waren die gemessenen Veränderungen relativ gering. Insgesamt wurde gefunden, dass sich die Konzentrationen der Serumlipide in allen Gruppen während des Experiments veränderten. Das Gesamt- und das LDL-Cholesterol wurden in den meisten Versuchsgruppen stärker vermindert als in der Kontrollgruppe S. Es ist zu vermuten, dass dieser Effekt bei hypercholesterinämischen Tieren deutlicher ausgeprägt wäre. Demgegenüber wurde keine Beeinflussung der Triglycerid-Konzentration im Serum durch die Haferprodukte beobachtet.

Tab. 4.4-3: Veränderungen in Serumlipiden (mmol/l) zwischen der Woche 6 und der Woche 0 in Ratten bei Fütterung der Kontrolldiät S und der Versuchsdiäten

Gruppe	Gesamt-Cholesterol	LDL-Cholesterol	Triglyceride
S	0,031 ± 0,048	-0,071 ± 0,023	0,189 ± 0,088
M	-0,236 ± 0,057 ^a	-0,112 ± 0,027	-0,099 ± 0,117
MN	-0,219 ± 0,073 ^a	-0,135 ± 0,034	0,081 ± 0,081
K	-0,087 ± 0,077	-0,165 ± 0,025 ^a	0,321 ± 0,054
KN	-0,335 ± 0,058 ^b	-0,136 ± 0,029	-0,165 ± 0,115 ^a
M#	-0,062 ± 0,065	-0,164 ± 0,015 ^a	0,292 ± 0,072

Mittelwerte ± SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$ gegenüber Kontrollgruppe S.

3.4.5 Keimzahlen

Die Keimzahlen wurden vor Versuchsbeginn und am Versuchsende bestimmt. Während des Experiments wurden bei einigen der untersuchten Keimgruppen signifikante Änderungen gegenüber der Kontrolle festgestellt. Die Ergebnisse der 6. Woche sind in Abb 4.4-3 zusammengefasst. In verschiedenen Versuchsgruppen nahmen sowohl die anaeroben als auch die aeroben Mikroorganismen zu. Es ist bemerkenswert, dass in allen Versuchsgruppen die Zahl der coliformen Keime (mit Ausnahme der Gruppe M#) signifikant abnahm. Andererseits wurden signifikant höhere CFU für *Bifidobacterium* gefunden. Die in logarithmischer Darstellung gezeigten Unterschiede betragen in verschiedenen Fällen mehr als eine Größenordnung. Bei *Bacteroides* und *Lactobacillus* wie auch bei Hefen (nicht gezeigt) traten praktische keine Veränderungen zwischen den Gruppen auf.

3.4.6 Organgewichte

Am Tötungstag der Tiere in der 6. Woche wurde das Gewicht ausgewählter Organe bestimmt. Im Gewicht der Leber (10,97-12,25 g), der Milz (0,64-0,75 g), des Magens (3,71-4,57 g), des Jejunums (6,15-6,79 g) sowie des Ileums (0,35-0,47 g) gab es keine Unterschiede zwischen den einzelnen Tiergruppen. Die Gewichte des Duodenums waren in den Versuchsgruppen K und M# signifikant niedriger als in der Kontrolle ($P \leq 0,006$).

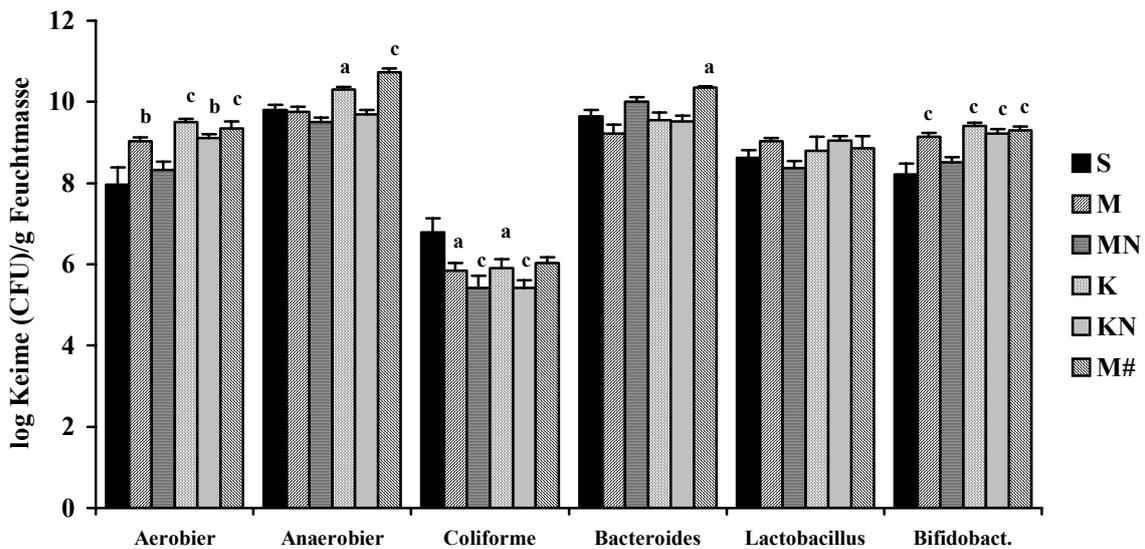


Abb. 4.4-3: Keimzahlen in log Kolonie-bildende Einheiten (CFU) in frischen Faecesproben von Ratten der Kontrollgruppe S sowie der Versuchsgruppen in der 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 6$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Die Gewichte von Ileum, Caecum und Colon sind in Abb. 4.4-4 zusammengestellt. Das Caecumgewicht war in allen Versuchsgruppen (außer Gruppe M) signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Dieses ist ein Effekt der höheren BS-Konzentration im Futter der Versuchsgruppen. Weiterhin waren das proximale Colon und das distale Colon in den Versuchsgruppen im Trend oder signifikant schwerer. Es wurden keine makroskopischen Veränderungen an den Organen der Tiere beobachtet.

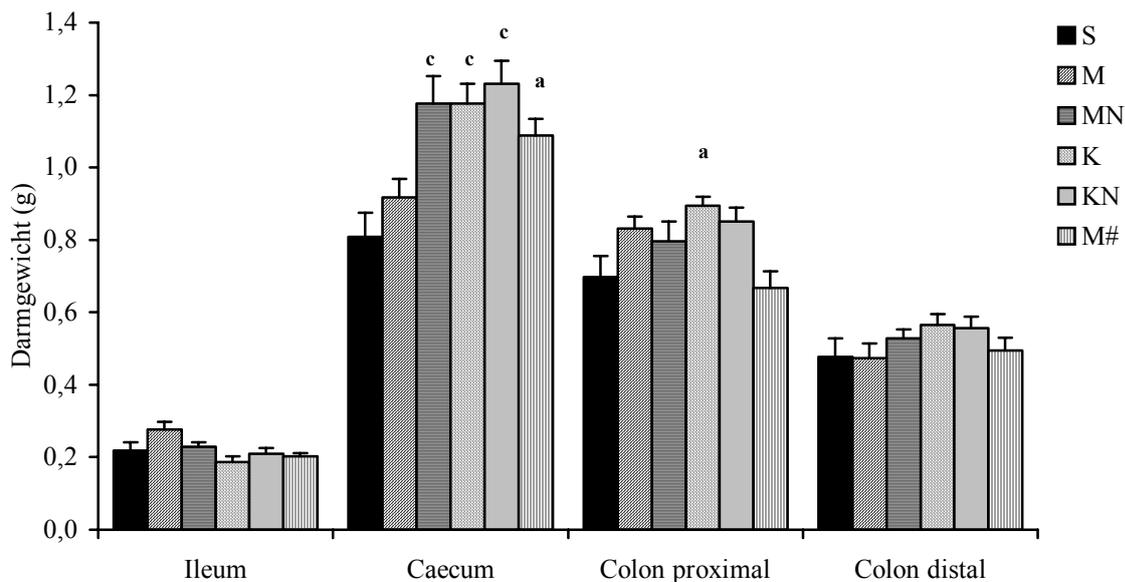


Abb. 4.4-4: Organgewichte der Tiere nach der Tötung in der 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

3.4.7 Darminhalte und Faeces

Die Menge an Darminhalten wurde am Versuchsende bestimmt. Die Ergebnisse sind in der Abb. 4.4-5 zusammengestellt. Bei den Ileuminhalten wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Tiergruppen beobachtet. Die Caecuminhalte waren in den Versuchsgruppen (mit Ausnahme von M#) signifikant erhöht. Auch die meisten Coloninhalte waren in den Versuchsgruppen im Trend oder signifikant höher als im Kontrollversuch S. Dieser Befund weist darauf hin, dass in den Versuchsgruppen, die BS-angereicherten Diäten erhielten, die Darminhalte vergrößert waren.

Resistente Stärke trat nur in Caecuminhalten nur in den Versuchsgruppen MN, KN und M# auf (Tab. 4.4-4). In Coloninhalten war keine RS mehr nachweisbar.

Tab. 4.4-4: Resistente Stärke in Caecuminhalten

Kontrolle S	Gruppe M	Gruppe MN	Gruppe K	Gruppe KN	Gruppe M#
0	0	0,174±0,044	0	0,140±0,009	0,061±0,02

Mittelwerte, $n = 3-4$.

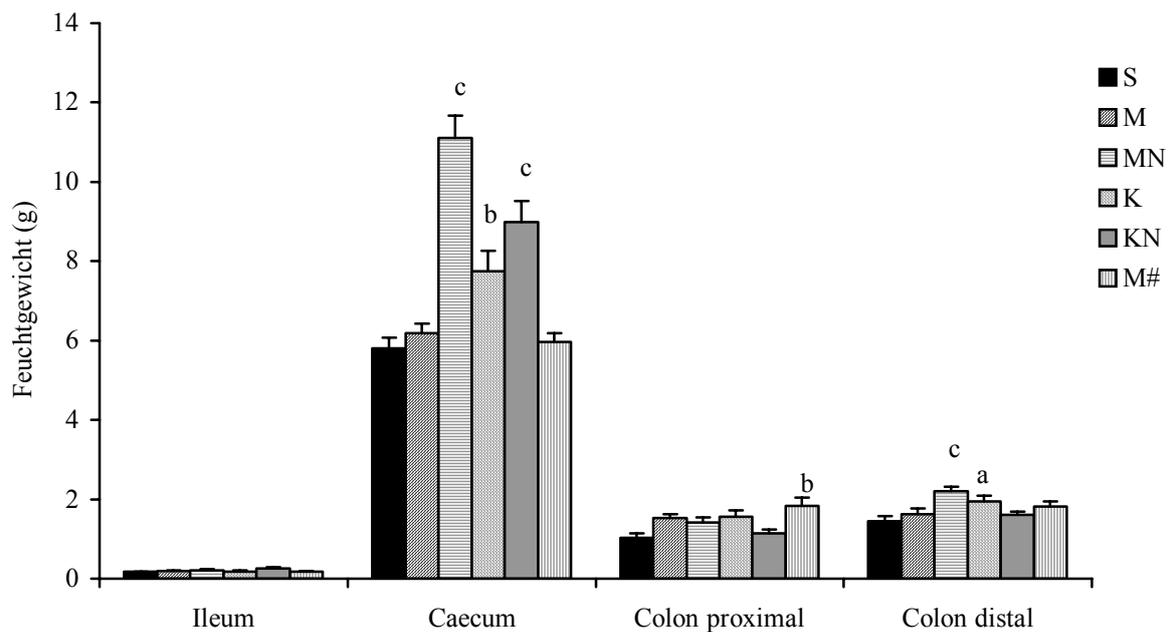


Abb. 4.4-5: Darminhalte der Tiere nach der Tötung in der 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$.
^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Weiterhin wurden am Ende des Versuchs in den Inhalten des Caecums und des proximalen Colons die pH-Werte ermittelt.

Die tiefsten pH-Werte wurden in Caecuminhalten der Gruppe K ($\text{pH } 6,43 \pm 0,04$) und in Coloninhalten der Versuchsgruppe KN ($\text{pH } 6,26 \pm 0,08$) gemessen (Abb. 4.4-6). Dieses Ergebnis ist auf eine höhere Bildung von SCFA während der Fermentation von Haferkleie zurückzuführen. In den Coloninhalten

wurden geringere pH-Werte gemessen, wenn Novelose in den Diäten anwesend war. Insgesamt waren in allen Versuchsgruppen die pH-Werte signifikant kleiner als in der Kontrolle. In den Kontrollgruppen betragen die pH-Werte $7,39 \pm 0,05$ (Colon) bzw. $7,28 \pm 0,06$ (Caecum). Das heißt, in den Versuchsgruppen war der pH um etwa eine Einheit vermindert.

Die Trockenmasse in den Darminhalten ist in der Tab. 4.4-5 zusammengestellt. In Caecuminhalten wurden TM-Gehalte zwischen 20,5 % (Kontrollgruppe) und 25,5 % (Versuchsgruppe M#) gefunden. In Inhalten des proximalen Colons war der TM-Gehalt höher. Es wurden hier Werte zwischen 25,1 % (Kontrolle) und 32,0 % (Versuchsgruppe M) gemessen.

Tab. 4.4-5: Trockenmasse von Darminhalten in der 6. Woche (in %)

Darminhalt	Kontrolle S	Gruppe M	Gruppe MN	Gruppe K	Gruppe KN	Gruppe M#
Caecum	$20,4 \pm 0,9$	$23,1 \pm 1,2$	$21,7 \pm 1,3$	$21,3 \pm 0,7$	$21,9 \pm 0,8$	$25,5 \pm 0,5$
Colon prox.*	$25,1 \pm 2,1$	$32,0 \pm 2,5$ ^c	$27,1 \pm 3,1$	$28,1 \pm 2,3$	$26,0 \pm 3,0$	$28,4 \pm 1,4$

Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S. (prox. = proximal)

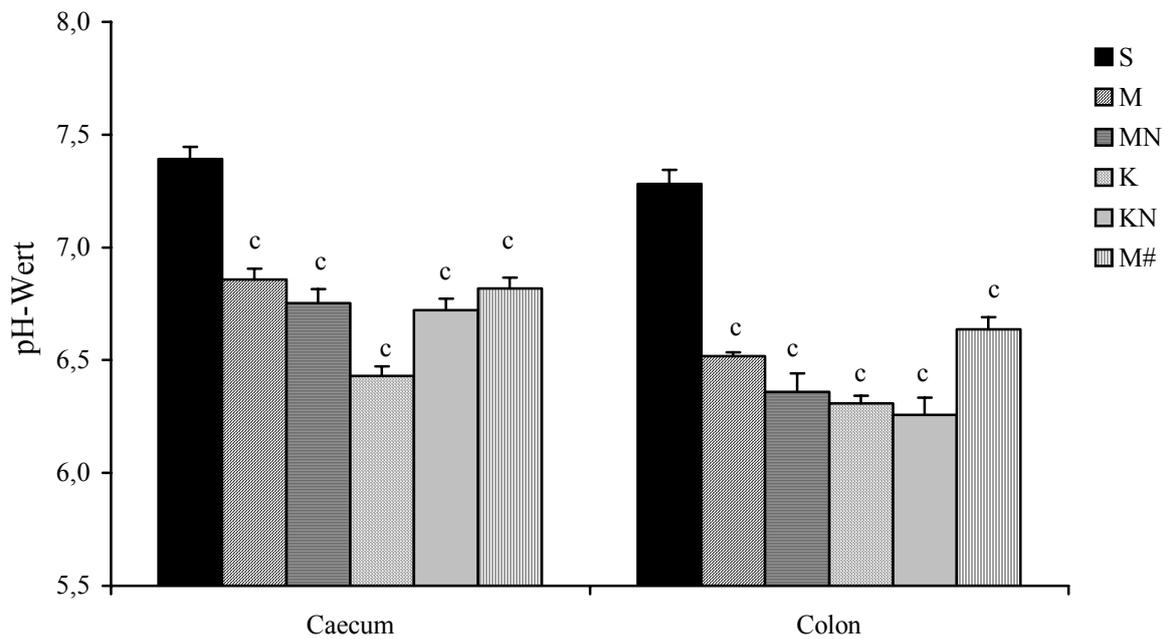


Abb. 4.4-6: pH-Werte in Inhalten des Caecums und proximalen Colons in der 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Zum Versuchsbeginn und in 14-tägigem Abstand wurden von allen Ratten die 24-h-Faeces quantitativ gesammelt und gefriergetrocknet. In diesen Proben wurden später unter anderem die Steroide bestimmt. Es liegen deshalb die pro Tag ausgeschiedenen Mengen an Faeces-TM während des gesamten Versuchszeitraums (in der 0., 2., 4. und 6. Woche) vor (Tab. 4.4-6).

Da die Differenzen bei der ausgeschiedenen TM in der Woche 0 zwischen allen Tieren gering waren, wurde hier für alle Gruppen ein gemeinsamer Durchschnittswert berechnet. Allgemein wurden in allen Gruppen mit zunehmender Versuchsdauer, und damit auch mit zunehmendem Alter der Tiere, höhere Mengen an TM ausgeschieden. In allen Versuchsgruppen wurde signifikant mehr TM in den 24-h-Faeces in der 4. und in der 6. Versuchswoche ausgeschieden als in der Kontrollgruppe.

Tab. 4.4-6: Faeces Ausscheidung

Woche	Kontrolle S	Gruppe M	Gruppe MN	Gruppe K	Gruppe KN	Gruppe M#
(g Trockenmasse/Tier und Tag)						
0	1,95±0,06	1,95±0,06	1,95±0,06	1,95±0,06	1,95±0,06	1,95±0,06
2	2,78±0,16	3,56±0,22	3,44±0,26 ^a	3,81±0,21	3,38±0,07	3,06±0,15
4	2,83±0,10	4,35±0,17 ^c	4,50±0,12 ^c	4,58±0,17 ^c	4,13±0,13 ^c	3,53±0,13 ^a
6	3,09±0,08	4,54±0,25 ^c	4,67±0,37 ^c	4,83±0,31 ^c	4,44±0,15 ^c	4,19±0,24 ^b

Mittelwerte ± SEM, $n = 10$ (0. Woche: $n = 70$). ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

3.4.8 Kurzkettige Fettsäuren

Kurzkettige Fettsäuren wurden in den Faeces in der 0., 3. und 6. Woche sowie am Tötungstag in den Caecuminhalten bestimmt. Die Konzentrationen der individuellen SCFA in den Gesamt-Caecuminhalten sind in Abb. 4.4-7 zusammengefasst. Die dominierende SCFA war das Acetat. Es wurden auch signifikant höhere Konzentrationen an Propionat und an Butyrat in allen Versuchsgruppen, im Vergleich zur Kontrolle, bestimmt. In beiden Haferkleie-Gruppen (K und KN) wurden die größten Mengen an Butyrat gefunden. In sehr kleinen Konzentrationen wurden auch Valeriate nachgewiesen.

In der Kontrollgruppe betrug die Menge an Gesamt-SCFA in den Gesamt-Caecuminhalten $156,1 \pm 9,9$ μmol . In allen Versuchsgruppen wurden signifikant höhere Gesamt-SCFA-Konzentrationen ($P < 0,001$) gefunden: Gruppe M = $313,9 \pm 15,0$ μmol , Gruppe MN = $420,5 \pm 24,9$ μmol , Gruppe K = $590,4 \pm 37,3$ μmol , Gruppe KN = $609,3 \pm 54,3$ μmol und Gruppe M# = $345,5 \pm 33,1$ μmol .

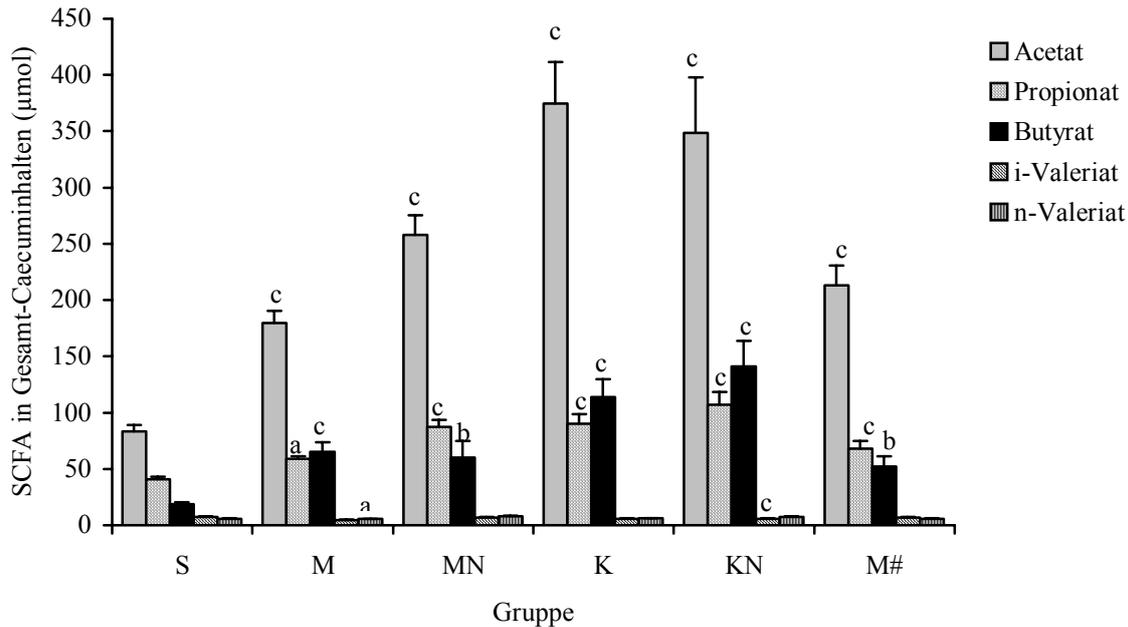


Abb. 4.4-7: Konzentrationen an individuellen SCFA in Caecuminhalten (6. Versuchswoche) Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Es wurden in allen Versuchsgruppen auch signifikant höhere Gesamt-SCFA in den Caecuminhalten ermittelt, wenn die Werte auf ein Gramm TM bezogen werden ($P < 0,001$), z. B. Kontrollgruppe = $127,7 \pm 4,2$ μmol , Gruppe M = $238,0 \pm 11,6$ μmol , Gruppe K = $366,3 \pm 14,1$ μmol und Gruppe M# = $274,5 \pm 21,3$ μmol .

In Abb. 4.4-8 ist die Konzentration an Gesamt-SCFA (in $\mu\text{mol/g}$ TM) in den Faeces in der 0., 3. und 6. Versuchswoche zusammengestellt. In der Kontrollgruppe wurden keine signifikanten Unterschiede in der SCFA-Bildung im Verlauf des Versuchs festgestellt. Demgegenüber wurden in den Versuchsgruppen sowohl in der 3. als auch in der 6. Woche jeweils signifikant höhere SCFA-Konzentrationen als in den entsprechenden Kontrollen gemessen.

Die Konzentrationen an individuellen SCFA in den Faeces (in $\mu\text{mol/g}$ Feuchtgewicht) in der 6. Versuchswoche stellt Abb. 4.4-9 dar. In allen Versuchsgruppen wurden signifikant mehr Acetat und Butyrat sowie mit einer Ausnahme auch mehr Propionat als im Kontrollversuch gefunden. Es soll erwähnt werden, dass in dieser Darstellungsweise in der 3. Versuchswoche ähnliche Ergebnisse ermittelt wurden (Daten nicht gezeigt).

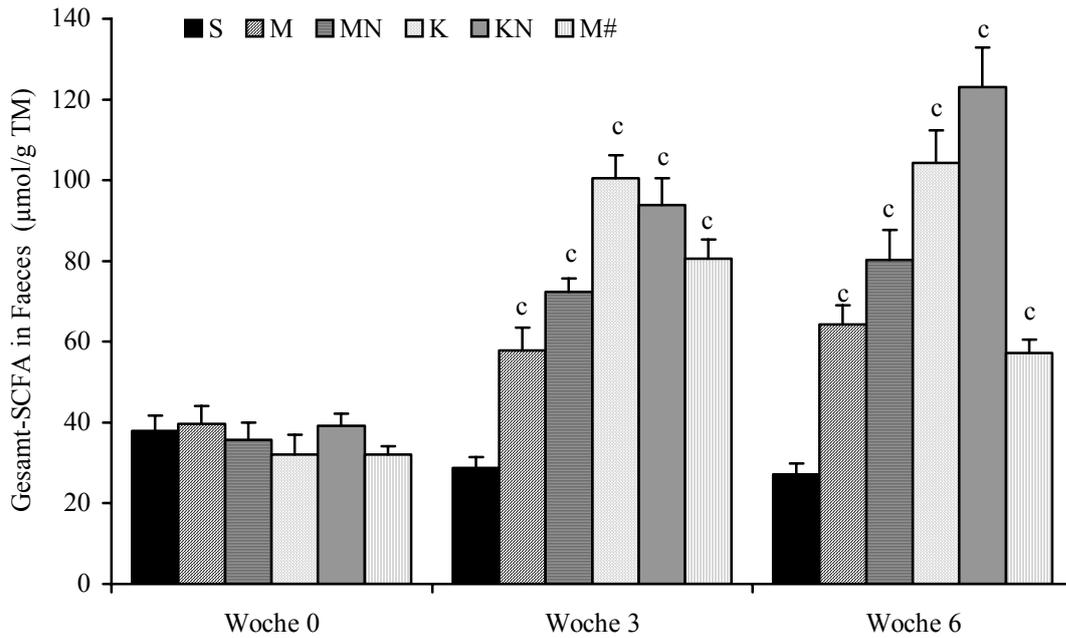


Abb. 4.4-8: Gesamt-SCFA in den Faeces der Kontrollgruppe S sowie der verschiedenen Versuchsgruppen in der 0., 2. und 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

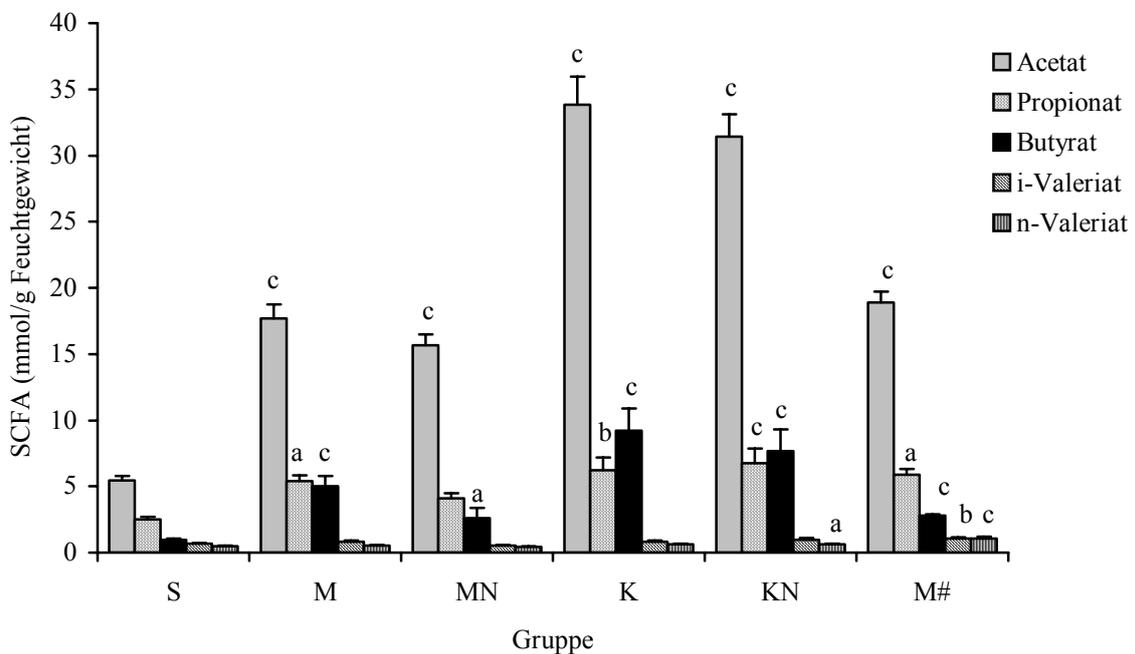


Abb. 4.4-9: Konzentrationen an individuellen SCFA in den Faeces (6. Versuchswoche) Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

In Tab. 4.4-7 sind die prozentualen molaren Verhältnisse der 3 wichtigsten SCFA in den Faeces (3. und 6. Woche) sowie in Caecuminhalten aufgeführt. Systematische Unterschiede zwischen der 3. und der 6. Versuchswoche waren in den Faeces nicht erkennbar.

Tab. 4.4-7: Molare Verhältnisse der kurzkettigen Fettsäuren Acetat, Propionat und Butyrat in den Faeces der 3. und 6. Versuchswoche sowie in Caecuminhalten.

	Kontrolle S	Gruppe M	Gruppe MN	Gruppe K	Gruppe KN	Gruppe M#
Acetat (%)						
Faeces W 3	71,32	69,97	65,65	66,19	64,11	68,13
Faeces W 6	60,92	63,28	70,51	68,87	69,15	68,49
Caecum	58,17	58,99	63,71	63,55	56,47	64,57
Propionat (%)						
Faeces W 3	19,80	12,17	19,76	10,41	12,64	19,48
Faeces W 6	28,47	19,15	18,07	13,26	14,17	21,21
Caecum	28,84	19,69	21,79	15,59	17,85	20,42
Butyrat (%)						
Faeces W 3	8,89	17,85	14,59	23,40	23,26	12,38
Faeces W 6	10,61	17,57	11,43	17,88	16,68	10,31
Caecum	12,99	21,33	14,50	20,86	25,68	15,01

W = Versuchswoche. Mittelwerte, $n = 10$.

Hohe prozentuale Anteile an Butyrat traten in den Gruppen M, KN und K auf. Die prozentualen Anteile an Acetat waren in allen Gruppen in den Caecuminhalten kleiner als in den Faeces. Andererseits wurden in der 6. Versuchswoche in Caecuminhalten höhere Anteile an Butyrat als in den Faeces gefunden. Dieses Ergebnis weist auf eine relativ hohe Resorptionsrate von Butyrat im Dickdarm hin.

Die Ergebnisse zeigen weiterhin, dass die Konzentrationen an SCFA in Caecuminhalten grundsätzlich höher waren als in den Faeces (Woche 6).

3.4.9 Gallensäuren und neutrale Sterole

Die GS und NS wurden in der 0., 2., 4 und in der 6. Versuchswoche in den 24-h-Faeces sowie am Versuchsende in den Inhalten vom Caecum sowie proximalen Colon bestimmt. Die Darminhalte wurden nach dem Wägen sofort eingefroren und dann bis zur Aufarbeitung bei -20°C zwischengelagert.

3.4.9.1 Gallensäuren in Caecuminhalten der Ratten

In Caecuminhalten der Ratten wurden bei der Kontrollgruppe S $9,37 \mu\text{mol GS/g TM}$ gefunden. In den Versuchgruppen war, mit Ausnahme der Gruppe M#, die GS-Konzentration mit bis zu $12,91 \mu\text{mol/g TM}$ signifikant höher ($P < 0,001$). Die höchsten GS-Konzentrationen traten im Caecum bei den Gruppen K und KN auf, deren Futter bis zu 50 % Haferkleie zugesetzt wurde. Demgegenüber war bei Gabe des autoklavierten Produktes (Gruppe M#) die GS-Konzentration mit $9,18 \mu\text{mol/g TM}$ sogar kleiner als in der Kontrolle (Tab. 4.4-8).

In Caecuminhalten wurden konjugierte und freie GS gefunden (Tab. 4.4-8). Es wurden relativ hohe Konzentrationen an Cholsäure, Desoxycholsäure und Lithocholsäure sowie Hyodesoxycholsäure bestimmt. C lag vorwiegend in konjugierter Form vor, während DC und CDC in geringerem Maße kon-

jugiert waren (siehe Anhang; Tab. A4-4). Es zeigten sich besonders Unterschiede zwischen der Kontrolle einerseits und den Versuchsgruppen andererseits an (z. B. bei TC, C, α MC, β MC).

Es wurden zwischen $1,64 \pm 0,05 \mu\text{mol}$ und $2,32 \pm 0,05 \mu\text{mol}$ taurokonjugierte GS/g TM in den Caecuminhalten gefunden. Von den Gesamt-GS waren demnach 16,26-17,85 % Taurinkonjugate in den Versuchsgruppen und 22,54 % in der Kontrolle (siehe Anhang; Abb. A4-10).

Etwa 36 % der GS in Caecuminhalten gehörten zur Cholsäuregruppe. Es war auffallend, dass die prozentualen Anteile der C- und CDC-Gruppe in allen Versuchsgruppen und in der Kontrollgruppe gleich waren. In Caecuminhalten waren die Konzentration der Metabolite KDC und KLC recht gering. Innerhalb der CDC-Gruppe waren demgegenüber hohe Anteile der Metabolite α -MC, β -MC und HDC anwesend.

Bezogen auf den Gesamt-Caecuminhalt betrug die Menge an Gesamt-GS in der Kontrollgruppe $10,51 \pm 0,68 \mu\text{mol}$. In den Versuchsgruppen wurden folgende Werte gefunden:

Gruppe M = $16,31 \pm 0,45 \mu\text{mol}$, Gruppe MN = $22,29 \pm 1,14 \mu\text{mol}$, Gruppe K = $18,45 \pm 0,79 \mu\text{mol}$, Gruppe KN = $21,38 \pm 0,62 \mu\text{mol}$ und Gruppe M# = $13,38 \pm 0,33 \mu\text{mol}$. Mit Ausnahme der Diät mit dem autoklavierten Hafermehl ($P = 0,067$) wurden bei Gabe aller anderer Versuchsdiäten signifikant mehr Gallensäuren in Gesamt-Caecuminhalten gefunden als bei Verabreichung der Kontrolldiät ($P < 0,001$).

In den Caecuminhalten der Kontrollgruppe wurden $4,21 \pm 0,09 \mu\text{mol}$ primäre GS und $5,16 \pm 0,07 \mu\text{mol}$ sekundäre GS pro Gramm TM bestimmt. In den Versuchsgruppen stieg die Konzentration der primären GS auf $4,89 \pm 0,07$ bis $7,55 \pm 0,46 \mu\text{mol}$ an, wobei die höchsten Werte in den Tieren auftraten, deren Diäten Haferkleie enthielten (Gruppen K und KN). Die Mengen an sekundären GS waren in einigen Gruppen höher und in einigen geringer als in der Kontrolle (Abb. 4.4-10). Während in der Kontrollgruppe 44,10 % primäre GS auftraten, stieg dieser Wert signifikant auf 47,83 %, 60,44 %, 55,10 %, 56,91 % und 56,30 % in den Versuchsgruppen ($P < 0,001$).

Tab. 4.4-8: Konzentration an individuellen Gallensäuren ($\mu\text{mol/g}$ Trockenmasse) in Caecuminhalten von Ratten bei Gabe der Kontrolldiät S oder der Versuchsdiäten in der 6. Versuchswoche.

Gruppe	TC	C	TDC	DC	KDC	KLC	TCDC	CDC	LC	α MC	β MC	HDC	UDC	Summe
S	1,177 $\pm 0,035$	0,384 $\pm 0,034$	0,687 $\pm 0,019$	0,977 $\pm 0,028$	0,018 $\pm 0,006$	0,114 $\pm 0,013$	0,248 $\pm 0,014$	0,475 $\pm 0,015$	1,394 $\pm 0,042$	0,836 $\pm 0,021$	1,019 $\pm 0,033$	1,987 $\pm 0,034$	0,052 $\pm 0,009$	9,366 $\pm 0,067$
M	0,973 $\pm 0,030^c$	0,979 $\pm 0,022^c$	0,813 $\pm 0,027^a$	1,255 $\pm 0,034^c$	0,048 $\pm 0,006^a$	0,136 $\pm 0,012$	0,235 $\pm 0,008$	0,664 $\pm 0,022^c$	1,709 $\pm 0,037^c$	1,509 $\pm 0,023^c$	1,810 $\pm 0,037^c$	1,267 $\pm 0,045^c$	0,133 $\pm 0,011^c$	11,530 $\pm 0,117^c$
MN	0,998 $\pm 0,036^b$	1,039 $\pm 0,046^c$	0,604 $\pm 0,024$	0,944 $\pm 0,041$	0,039 $\pm 0,009$	0,068 $\pm 0,010^a$	0,176 ^b $\pm 0,011$	0,541 $\pm 0,020$	1,567 $\pm 0,032^a$	0,978 $\pm 0,020$	0,995 $\pm 0,032$	2,147 $\pm 0,057$	0,123 $\pm 0,017^c$	10,217 $\pm 0,107^c$
K	1,293 $\pm 0,035$	0,919 $\pm 0,029^c$	0,784 $\pm 0,043$	1,430 $\pm 0,029^c$	0,118 $\pm 0,008^c$	0,067 $\pm 0,008^a$	0,245 $\pm 0,017$	0,732 $\pm 0,027^c$	1,741 $\pm 0,044^c$	1,764 $\pm 0,067^c$	1,939 $\pm 0,072^c$	1,757 $\pm 0,046^b$	0,123 $\pm 0,012^c$	12,912 $\pm 0,177^c$
KN	1,165 $\pm 0,041$	1,176 $\pm 0,037^c$	0,677 $\pm 0,026$	1,328 $\pm 0,057^c$	0,036 $\pm 0,008$	0,092 $\pm 0,010$	0,191 $\pm 0,009^a$	0,690 $\pm 0,012^c$	1,426 $\pm 0,032$	1,978 $\pm 0,046^c$	2,216 $\pm 0,054^c$	1,421 $\pm 0,031^c$	0,099 $\pm 0,008^a$	12,492 $\pm 0,056^c$
M#	1,040 $\pm 0,026^a$	0,560 $\pm 0,034^b$	0,493 $\pm 0,018^c$	1,054 $\pm 0,046$	0,050 $\pm 0,004^a$	0,083 $\pm 0,012$	0,112 $\pm 0,012^c$	0,564 $\pm 0,018^a$	1,172 $\pm 0,027^c$	1,183 $\pm 0,053^c$	1,559 $\pm 0,047^c$	1,211 $\pm 0,026^c$	0,105 $\pm 0,014^a$	9,183 $\pm 0,081$

Mittelwerte \pm SEM, $n = 6$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

TC, Taurocholsäure; C, Cholsäure; TDC, Taurodesoxycholsäure; DC, Desoxycholsäure; KDC, 7-Ketodesoxycholsäure; KLC, 12-Ketolithocholsäure; TCDC, Taurochenodesoxycholsäure; CDC, Chenodesoxycholsäure; LC, Lithocholsäure; α MC, α -Muricholsäure; β MC, β -Muricholsäure; HDC, Hyodesoxycholsäure; UDC, Ursodesoxycholsäure.

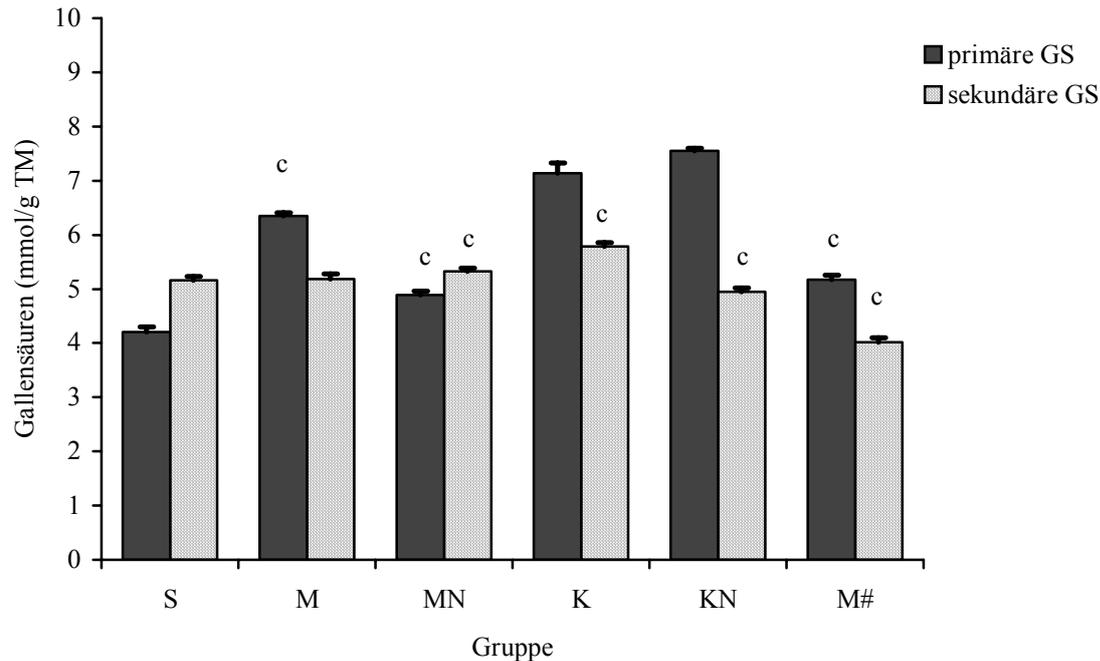


Abb. 4.4-10: Konzentration an primären und sekundären Gallensäuren in Caecuminhalten der Kontrollgruppe S sowie der Versuchsgruppen in der 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 6$. ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

3.4.9.2 Gallensäuren in Coloninhalten der Ratten

In Coloninhalten wurden höhere Konzentrationen an GS im Vergleich zu den Caecuminhalten gefunden. Während in der Kontrolle 12,12 μmol Gesamt-GS/g TM auftraten, waren in den Versuchsgruppen bis zu 14,82 μmol Gesamt-GS/g TM anwesend. Wie in den Caecuminhalten war auch in Coloninhalten der Versuchgruppe M# die Konzentration an GS gering (siehe Anhang; Tab. A4-5). Die Konzentrationen an C, DC, KDC, KLC, CDC, LC, αMC , βMC und UDC waren in den Coloninhalten höher als in Caecuminhalten. Im Vergleich zur Kontrolle wurden bei einigen GS deutliche Unterschiede in ihrem prozentualen Anteil gefunden. So waren beispielsweise in der Kontrollgruppe 7,56 % C, 12,84 % αMC und 19,47 % HDC vorhanden, während deren Anteil in den Versuchsgruppen 9,93-13,56 %, 14,27-17,22 % bzw. 9,50-12,79 % betrug (siehe Anhang; Tab. A4-4).

Deutlich ist die weitere Abnahme der taurokonjugierten GS im proximalen Colon im Vergleich zum Caecum (siehe Anhang; Abb. A4-10). Nur noch weniger als 5 % der GS waren in den Coloninhalten konjugiert, wobei der höchste Anteil in der Kontrolle gefunden wurde.

Bezogen auf den Gesamt-Coloninhalt betrug die Menge an Gesamt-GS in der Kontrollgruppe (S) $2,60 \pm 0,28 \mu\text{mol}$. In den Versuchsgruppen wurden folgende Werte bestimmt:

Gruppe M = $6,17 \pm 0,34 \mu\text{mol}$, Gruppe MN = $4,23 \pm 0,56 \mu\text{mol}$, Gruppe K = $5,03 \pm 0,41 \mu\text{mol}$, Gruppe KN = $3,76 \pm 0,20 \mu\text{mol}$ und Gruppe M# = $5,04 \pm 0,47 \mu\text{mol}$. Mit Ausnahme der Diät KN wurden

bei Gabe aller anderer Versuchsdiäten signifikant mehr Gallensäuren in Gesamt-Coloninhalten gefunden als bei Verabreichung der Kontrolldiät ($P < 0,05$ bzw. $0,001$).

In Coloninhalten aller Versuchsgruppen wurden höhere Konzentrationen an primären GS als in der Kontrolle gefunden. Die Gehalte an sekundären GS waren demgegenüber in den Versuchsgruppen kleiner (Ausnahme: Gruppe K) (Abb. 4.4-11). In der Kontrollgruppe S waren 40,80 % primäre GS anwesend. Dieser Anteil erhöhte sich signifikant auf Werte zwischen 51,57 % (Gruppe M#) und 57,33 % (Gruppe KN). Der Anteil von GS, die zur Cholsäuregruppe gehören, war in den Coloninhalten mit durchschnittlich 34 % etwas geringer als in den Caecuminhalten.

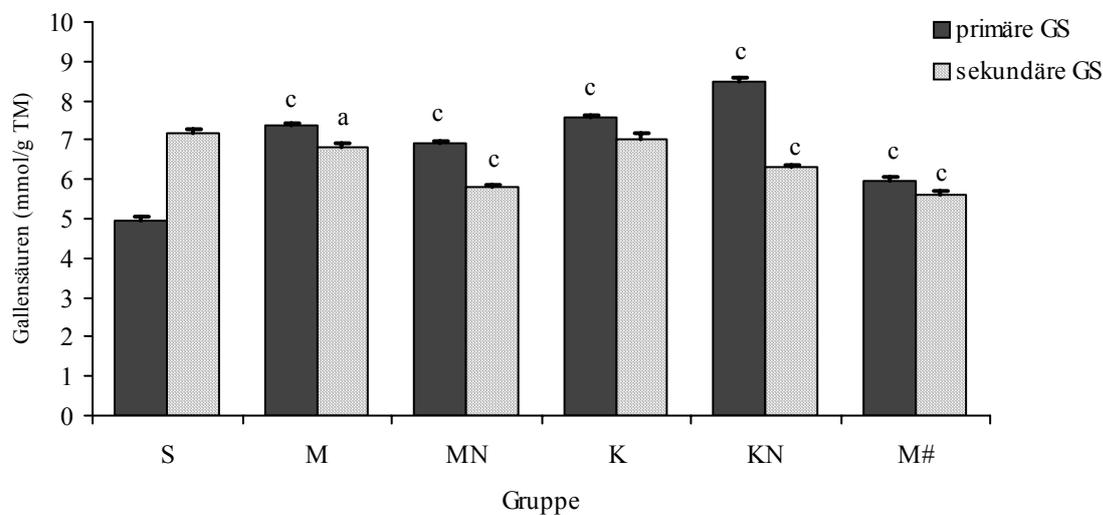


Abb. 4.4-11: Konzentration an primären und sekundären Gallensäuren in proximalen Coloninhalten der Kontrollgruppe S sowie der Versuchsgruppen M-M# in der 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 6$. ^a $P < 0,05$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

3.4.9.3 Gallensäuren in den Faeces der Ratten

Die Konzentration an Gesamt-GS betrug in der 0. Woche mit durchschnittlich $12,51 \mu\text{mol/g TM}$ (alle Gruppen) (siehe Anhang; Tab. A4-6). In der Kontrollgruppe S waren sowohl die mengenmäßige als auch prozentuale Zusammensetzung der individuellen GS zwischen der 0. und der 6. Versuchswoche nur gering verändert. Es wurden allgemein mehr GS-Metabolite und weniger primäre GS gefunden als in den Darminhalten. In der 6. Versuchswoche waren die prozentualen Anteile von C, KDC, CDC, αMC , βMC und UDC, d. h. der primären GS, tiefer als in den Versuchsgruppen (siehe Anhang; Tab. A4-4). Taurokonjugierte GS wurden in keiner Faecesprobe mehr ermittelt. Die höchsten Gesamt-GS-Konzentrationen traten in der 6. Woche wiederum in den Versuchsgruppen K und KN, die Kleiehaltige Futter erhielten, auf und die geringsten in der Kontrollgruppe und in der Gruppe M# (siehe Anhang; Tab. A4-6). In allen Gruppen erhöhte sich die tägliche Gesamt-GS-Ausscheidung im Verlauf des Versuchs (Abb. 4.4-12).

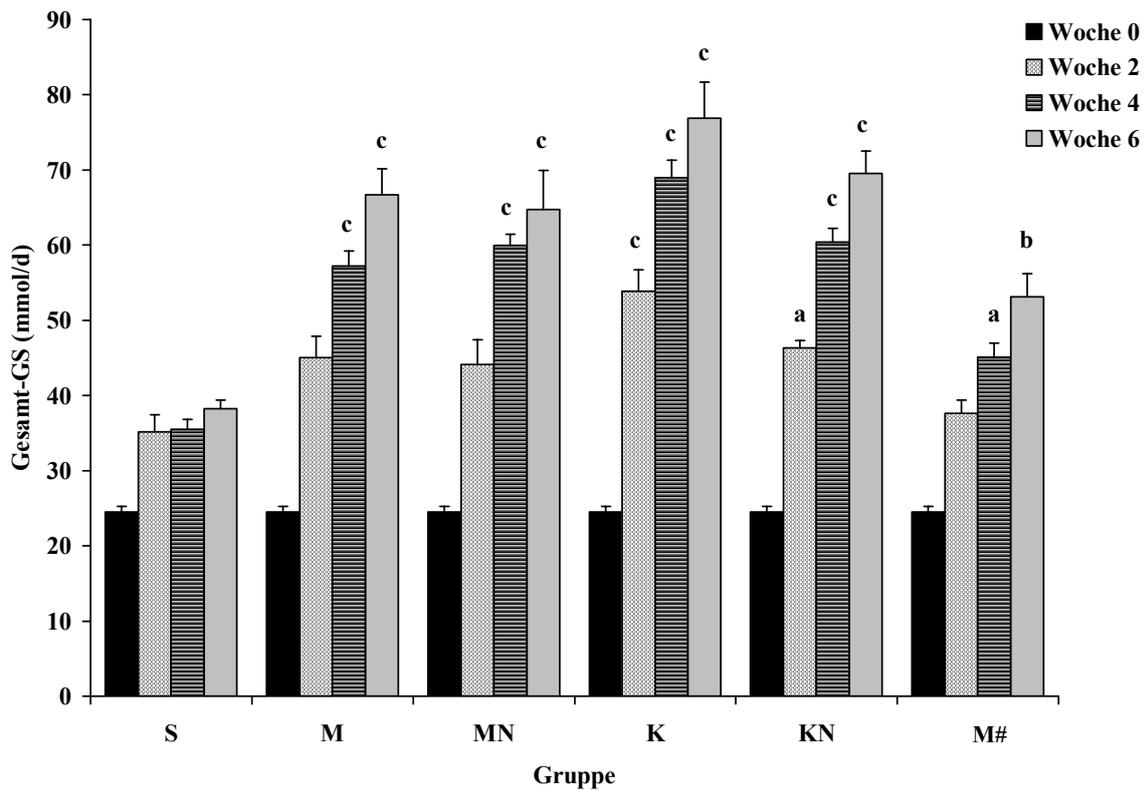


Abb. 4.4-12: Tägliche Ausscheidung an Gesamt-Gallensäuren in der Kontrollgruppe S und in den Versuchsgruppen im Verlauf des Experiments. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

In der Kontrollgruppe waren in der 6. Woche 4,66 g primäre und 7,73 g sekundäre GS/g TM anwesend. In allen Versuchsgruppen wurden höhere Konzentrationen an primären GS gefunden (siehe Anhang; Abb. A4-11). Die höchsten Werte ergaben sich in der Gruppe KN. Die Konzentrationen an sekundären GS waren mit Ausnahme der Gruppe K kleiner als in der Kontrolle. Dieses zeigt sich auch, wenn die prozentualen Anteile an primären und sekundären GS betrachtet werden (Abb. 4.4-13). In dieser Darstellungsweise waren in allen Versuchsgruppen die primären GS höher und die der sekundären GS niedriger als in der Kontrollgruppe. Die prozentualen Anteile von GS der Cholsäuregruppe waren in den Faeces nach 6 Versuchswochen nicht unterschiedlich (durchschnittlich 32,65 %).

3.4.9.4 Neutrale Sterole in Darminhalten der Ratten

Die Konzentration an Gesamt-NS in Caecuminhalten betrug 16,40 $\mu\text{mol/g}$ TM in der Kontrollgruppe und bis zu 20,37 $\mu\text{mol/g}$ TM in den Versuchsgruppen (siehe Anhang; Tab. A4-7). Ähnlich wie bei den GS wurde in der Gruppe K (Haferkleie) die höchste und in der Gruppe M# (autoklaviertes Hafermehl) die kleinste Menge an NS gefunden. Cholesterin war mit etwa 73-75 % das dominierende NS. Der Anteil von Coprostanol lag bei 25 %. Weiterhin wurden noch etwa 1 % Coprostanon gefunden.

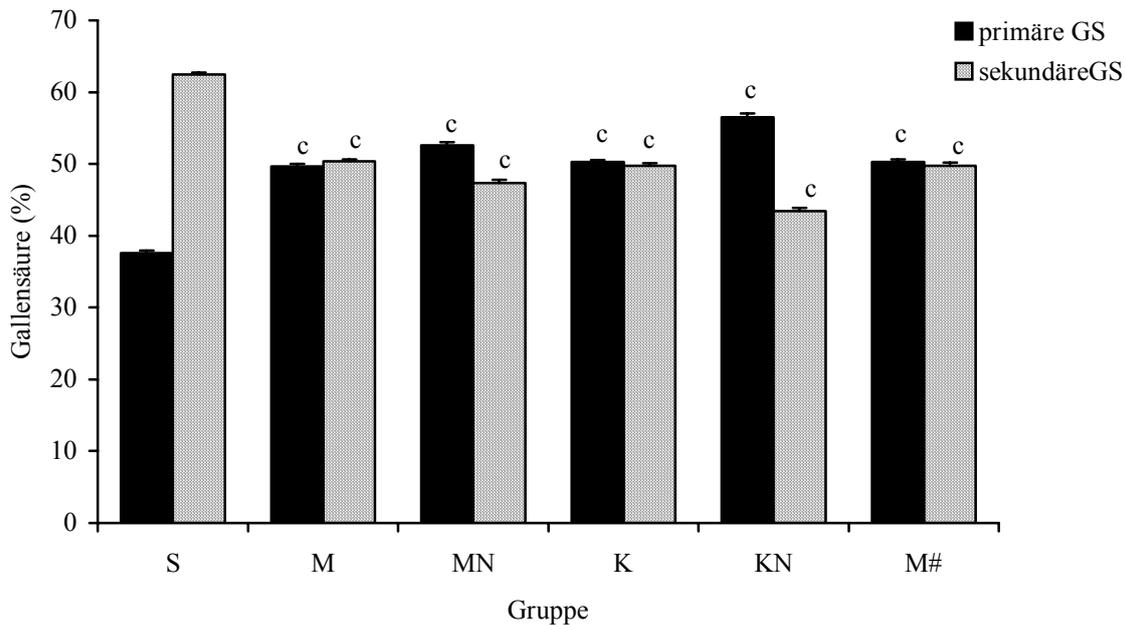


Abb. 4.4-13: Prozentualer Anteil der primären und sekundären Gallensäuren in den Faeces der Kontrollgruppe S sowie der Versuchsgruppen in der 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$.^a $P < 0,05$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Bezogen auf den Gesamt-Caecuminhalt betrug die Menge an Gesamt-NS in der Kontrollgruppe S $18,47 \pm 1,41 \mu\text{mol}$. In den Versuchsgruppen wurden folgende Werte bestimmt:

Gruppe M = $26,99 \pm 0,64 \mu\text{mol}$, Gruppe MN = $40,50 \pm 2,28 \mu\text{mol}$, Gruppe K = $29,06 \pm 1,09 \mu\text{mol}$, Gruppe KN = $33,15 \pm 1,18 \mu\text{mol}$ und Gruppe M# = $24,64 \pm 0,60 \mu\text{mol}$. Bei Gabe aller anderer Versuchsdiäten wurden signifikant mehr NS in Gesamt-Caecuminhalten gefunden als bei Verabreichung der Kontrolldiät ($P < 0,001$).

In Inhalten des proximalen Colons wurden $18,62 \mu\text{mol}$ Gesamt-NS/g TM in der Kontrollgruppe gefunden, während in den Versuchsgruppen bis zu $27,29 \mu\text{mol/g}$ TM auftraten (siehe Anhang; Tab. A4-7). Die beiden Versuchsgruppen, die Haferkleie-haltige Diäten erhielten, zeigten die höchsten NS-Gehalte in den Coloninhalten. Der prozentuale Anteil des Cholesterols war auf 42,5 % in der Kontrolle S und auf 38,7-41,8 % in den Versuchsgruppen gefallen. Das dominierende NS in den Coloninhalten war mit über 55 % Coprostanol, während der Anteil von Coprostanon zwischen 2,2 % (Kontrolle S) und 3,9 % (Gruppe K) lag.

Bezogen auf den Gesamt-Coloninhalt betrug die Menge an Gesamt-NS in der Kontrollgruppe S $3,98 \pm 0,43 \mu\text{mol}$. In den Versuchsgruppen wurden folgende Werte bestimmt:

Gruppe M = $10,83 \pm 0,56 \mu\text{mol}$, Gruppe MN = $7,34 \pm 0,98 \mu\text{mol}$, Gruppe K = $9,38 \pm 0,74 \mu\text{mol}$, Gruppe KN = $6,89 \pm 0,41 \mu\text{mol}$ und Gruppe M# = $8,38 \pm 0,83 \mu\text{mol}$. Bei Gabe aller anderer Versuchsdiäten wurden signifikant mehr NS in Gesamt-Caecuminhalten gefunden als bei Verabreichung der Kontrolldiät ($P < 0,05$ bzw. 0,001).

3.4.9.5 Neutrale Sterole in den Faeces der Ratten

Die Menge und Zusammensetzung der NS waren in der Kontrollgruppe von der 0. bis 6. Woche pro Gramm TM unverändert. Es traten am Ende des Experiments in der Kontrolle 20,63 μmol Gesamt-NS/g TM und in den Versuchsgruppen bis zu 29,84 μmol /g TM auf (siehe Anhang, Tab. A4-7). Jedoch erhöhte sich die täglich ausgeschiedene Menge an NS in allen Gruppen während des Experiments. Abb. 4.4-14 zeigt, dass in allen Versuchsgruppen in der 4. und 6. Woche signifikant mehr NS pro Tag ausgeschieden wurden als in der Kontrolle.

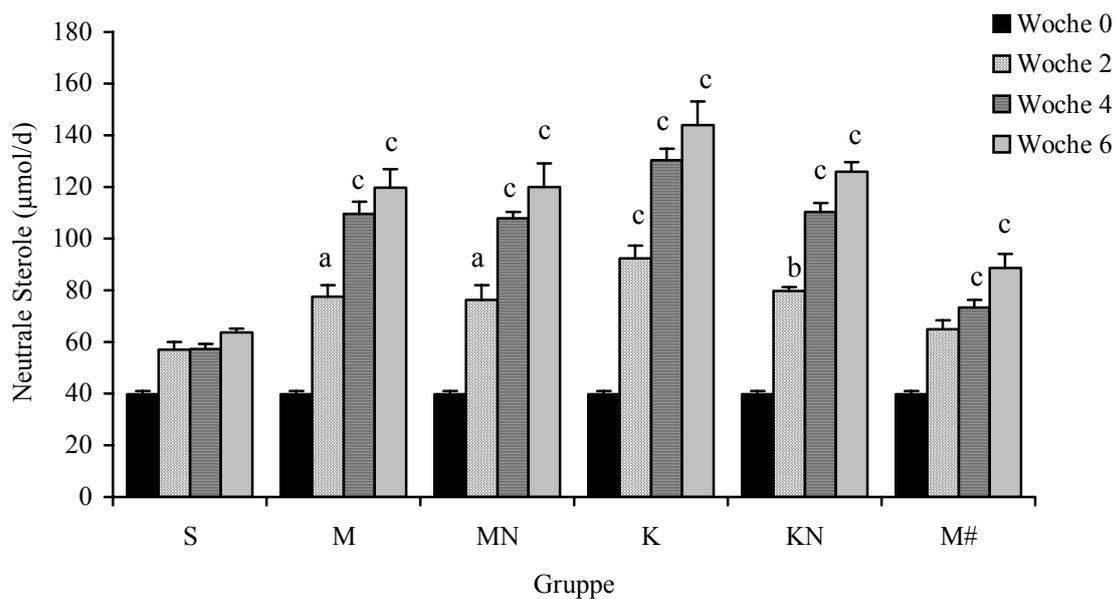


Abb. 4.4-14: Tägliche Ausscheidung an Gesamt-Neutralen-Sterolen in der Kontrollgruppe S und in den Versuchsgruppen in Verlauf des Experiments. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Während sich der Anteil an Cholesterol in den Faeces der 6. Woche im Vergleich zu den Caecum- und Coloninhalten weiter verringerte, nahmen die Anteile an Coprostanol und Coprostanon weiter zu. Außerdem wurden in den Versuchsgruppen geringe Mengen an Cholestanon gefunden. Vom Caecum zu den Faeces erhöhten sich die Anteile der Cholesterol-Metabolite von etwa 25 % auf bis zu ca. 70 % (siehe Anhang; Tab. A4-7).

3.4.9.6 Gesamtsteroidoide

Die Summe aus Gesamt-GS und Gesamt-NS wird als Gesamtsteroidoide bezeichnet. Während in der Kontrolle und in der Versuchsgruppe M# mit 33,02 bzw. 33,78 μmol /g TM die geringsten Konzentrationen an Gesamtsteroiden auftraten, wurden in den übrigen Versuchsgruppen mit 38,57 bis 45,78 μmol /g TM die höchsten Gesamtsteroidgehalte in der 6. Versuchswoche gefunden. Diese Zunahme war signifikant ($P < 0,001$). Am effektivsten erwies sich Haferkleie bezüglich der Steroidausscheidung. Auch die Hafermehlextrudate erwiesen sich als wirksam.

In der Abb. 4.4-15 sind die Mengen an ausgeschiedenen Gesamtsteroiden von der 0. bis zur 6. Versuchswoche zusammengestellt. Auch in dieser Darstellungsweise werden die höchsten Ausscheidungsraten in den Gruppen K und KN gefunden.

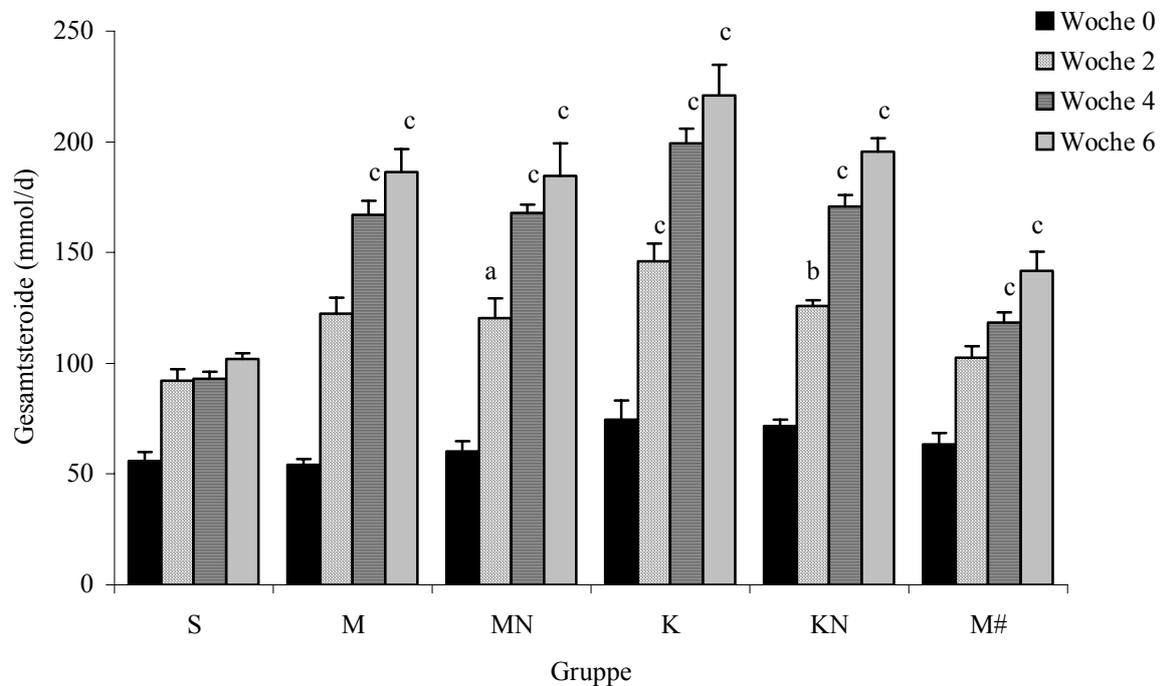


Abb. 4.4-15: Tägliche Ausscheidung an Gesamtsteroiden in der Kontrollgruppe S und in den Versuchsgruppen in Verlauf des Experiments. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Der Anteil der NS an den Gesamtsteroiden lag in der 6. Woche sowohl in Darminhalten als auch in den Faeces durchschnittlich um 63-64 %. In der 0. Woche wurden in den Faeces durchschnittliche NS-Anteile von 61 % berechnet.

Bezogen auf die 0. Woche (= 100 %) erhöhten sich die Anteile an ausgeschiedenen Gesamtsteroiden in der Kontrollgruppe S um ca. 0,5 % und in den Versuchsgruppen um 16,9 bis 39,9 % ($P < 0,001$). In der Gruppe M# betrug diese Zunahme jedoch nur etwa 4 % (siehe Anhang; Abb. A4-12).

Die Ergebnisse belegen, dass in Gegenwart einer BS-angereicherter Diät eine Erhöhung der Ausscheidung von Steroiden erreichbar ist.

Vergleicht man den Effekt von Haferprodukten auf die Ausscheidung von SCFA und GS, so ist festzustellen, dass die Adaptationsperiode der SCFA-Bildung an das Präbiotikum nach 3. Wochen abgeschlossen war, während die Ausscheidung an GS bis zum Ende der 6. Woche (Ende des Versuchs) anstieg.

3.5 Ernährungsversuch am Menschen

3.5.1 Befinden der Probanden

Das Extrudat wurde von den Probanden gut angenommen. Da es nicht gewürzt war, besaß es einen neutralen Geschmack. Es wurde von den Probanden überwiegend in Milch aufgenommen. Das Wohlbefinden der Probanden während des Versuches wurde mit gut eingeschätzt. Die körperlichen Aktivitäten waren bei allen Probanden unverändert und nicht eingeschränkt. Einige Probanden berichteten bis zur 2. Woche über eine leicht erhöhte Flatulenz. Es traten keine krankhaften Erscheinungen oder Obstipationen bzw. Durchfälle während des Versuchs auf. Die Probanden berichteten über eine erhöhte Stuhlfrequenz bis zur 4. Woche. Einige Probanden stellten ein erhöhtes Durstgefühl fest (Tab. 4.5-1). Das Körpergewicht der Probanden änderte sich während des Versuchs nicht.

Tab. 4.5-1: Körperliches Wohlbefinden der Probanden während des Ernährungsversuchs

Parameter	vor und nach dem Versuch [Woche 0 und 6] (Probandenanzahl)	während des Versuchs [Woche 2 und 4] (Probandenanzahl)
Körperliches Wohlbefinden (Krankheit, Obstipation, Diarrhöe, Magen-Darm-Beschwerden, usw.)	normal: (12)	leicht erhöhte Flatulenz: (6) Völlegefühl: (4) erhöhtes Durstgefühl: (5)
Körperliche Aktivitäten Stuhlgang (Frequenz, Konsistenz)	normal: (12) <i>Frequenz:</i> • 1× in 2-3 d: (3) • normal (1×/d): (8) • leicht erhöht (2×/d): (1) <i>Konsistenz:</i> • normal: (6) • fest: (5) • weich: (1)	normal: (12) <i>Frequenz:</i> • 1× in 2-3 d: (0) • normal (1×/d): (2) • leicht erhöht (2×/d): (10) <i>Konsistenz:</i> • normal: (3) • fest: (0) • weich: (9)

Das typische Ernährungsprotokoll eines ausgewählten Probanden während der Studie zeigt Tab. A4-8 (siehe Anhang)

3.5.2 Serumlipide

Die Konzentrationen an Serumlipiden veränderten sich nicht signifikant während des Versuchs. Es wurde zwar eine geringe Abnahme des Gesamt- und LDL-Cholesterols in der 4. Woche gemessen, jedoch waren die individuellen Unterschiede zwischen den 12 Probanden (Ausgangswerte, 0. Woche) so stark, dass die Streubreite der Messwerte groß war (Tab. 4.5-2).

Es wurde bei 3 Probanden am Anfang des Versuches (0. Woche) ein erhöhter Cholesterolspiegel (> 5,2 mmol/l) festgestellt. Bei diesen Probanden wurde im Laufe der Intervention eine Senkung des Cholesterols beobachtet. So betrugen die Werte in der 2. und 4. Woche durchschnittlich 5,2 mmol/l und

sanken zwei Wochen später, d.h. in der "Follow-up-Phase", im Vergleich zu den Ausgangswerten (5,58 mmol/l) weiter auf 4,8 mmol/l. Die Werte ließen sich jedoch aufgrund einer kleinen Anzahl der Probanden statistisch nicht absichern.

Tab. 4.5-2: Serumlipide während des Versuchs

Woche	Gesamt-Cholesterol	HDL-Cholesterol	LDL-Cholesterol (mmol/l)	Triglyceride
0	4,74 ± 0,24	1,70 ± 0,08	2,56 ± 0,22	1,11 ± 0,15
2	4,64 ± 0,21	1,61 ± 0,07	2,58 ± 0,15	1,23 ± 0,12
4	4,70 ± 0,25	1,82 ± 0,13	2,39 ± 0,23	1,14 ± 0,19
6	4,65 ± 0,22	1,64 ± 0,08	2,56 ± 0,17	1,23 ± 0,17

Mittelwerte ± SEM, $n = 12$.

3.5.3 Keimzahlen

Die Veränderungen in den Keimzahlen in frischen Faeces zu Beginn und am Ende des Versuchs zeigt Abb. 4.5-1. Es wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden. Es wurden jedoch erhöhte Werte für Lactobacillen und Bifidobakterien aber auch für *Bacteroides* ermittelt.

3.5.4 Faecesparameter

In den Faeces wurden die Trockenmasse und der pH-Wert bestimmt. Folgende Werte wurden für die TM gefunden: 0. Woche = 28,80 ± 2,63 %, 2. Woche = 27,96 ± 2,16 %, 4. Woche = 26,89 ± 1,96 % und 6. Woche = 29,93 ± 2,26 %. Es zeigt sich eine geringe Abnahme der durchschnittlichen TM in den Faeces von der 0. zur 4. Woche an. Die Veränderungen im Faeces-pH-Wert sind in Abb. 4.5-2 dargestellt. Der durchschnittliche pH-Wert fiel von 7,38 (0. Woche) auf 6,71 (4. Woche). In der "Follow up-Phase" erhöhte sich der pH-Wert dann wieder.

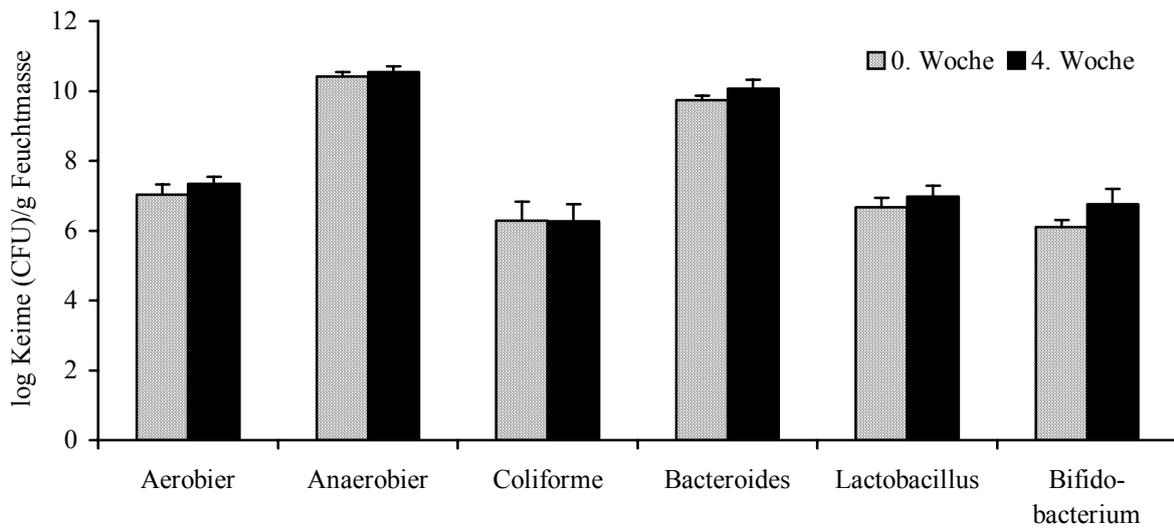


Abb. 4.5-1: Keimzahlen in log Kolonie-bildende Einheiten (CFU) während des Versuchs. Mittelwerte \pm SEM, $n = 12$.

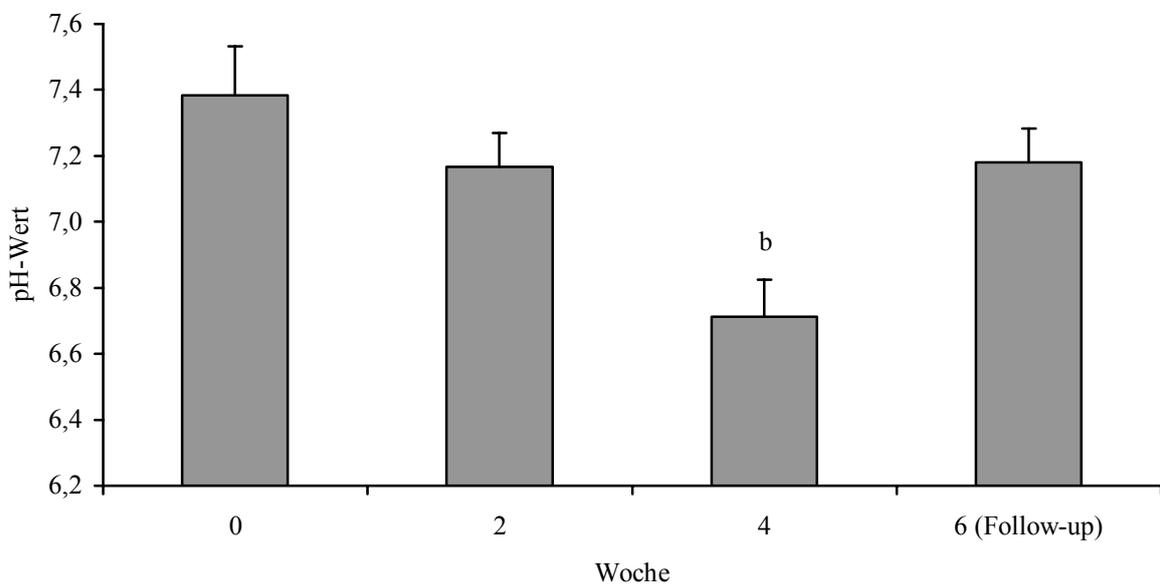


Abb. 4.5-2: Veränderungen in den Faeces-pH-Werten während des Versuchs. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^b $P < 0,005$ gegenüber 0. Woche.

3.5.5 Kurzkettige Fettsäuren

Infolge der großen individuellen Unterschiede in den Ausgangswerten (0. Woche) für die SCFA innerhalb der gesamten Probandengruppe wurden nur in wenigen Fällen signifikante Änderungen in der Konzentration an SCFA während des Versuchs berechnet (Tab. 4.5-3). Es soll nur erwähnt werden, dass in der 0. Woche die Gesamt-SCFA zwischen 30,1 und 117,2 $\mu\text{mol/g}$ Feuchtmasse schwankten. Im Trend nahmen jedoch die Konzentrationen an Propionat, *iso*-Valeriat und der Gesamt-SCFA in der 4. Woche zu. Es ist bemerkenswert, dass in der 4. Woche etwa 65 % mehr Butyrat pro Gramm Feuchtmasse als zum Versuchsbeginn gefunden wurden ($P < 0,05$). In der 6. Woche wurden dann wieder relativ geringe SCFA-Konzentrationen gemessen.

Tab. 4.5-3: Veränderungen in den kurzkettigen Fettsäuren während des Versuchs (Durchschnittswerte aller Probanden)

Woche	Acetat	Propionat ($\mu\text{mol/g}$ Feuchtmasse)	Butyrat	Total*
0	43,21 \pm 4,78	11,76 \pm 1,97	10,31 \pm 1,40	69,27 \pm 7,90
2	42,50 \pm 4,34	11,56 \pm 1,60	13,23 \pm 2,06	71,12 \pm 7,44
4	50,82 \pm 5,50	16,24 \pm 1,70	17,06 \pm 2,35 ^a	90,10 \pm 8,87
6 (Follow-up)	33,40 \pm 2,04	11,47 \pm 1,39	11,34 \pm 1,76	60,47 \pm 4,14

*Summe aus Acetat, Propionat, Butyrat, *n*-Valeriat und *iso*-Valeriat. Mittelwerte \pm SEM, $n = 12$. ^a $P < 0,05$ gegenüber 0. Woche.

Das molare Verhältnis der 3 wichtigsten SCFA ist in Abb. 4.5-3 zusammengefasst. Es zeigt sich, dass der Anteil an Acetat während der Intervention fällt, während der Butyratanteil zunimmt. In der 4. Woche wurden im Trend kleinere Acetat- ($P = 0,06$) und höhere Butyratanteile ($P = 0,13$) gefunden.

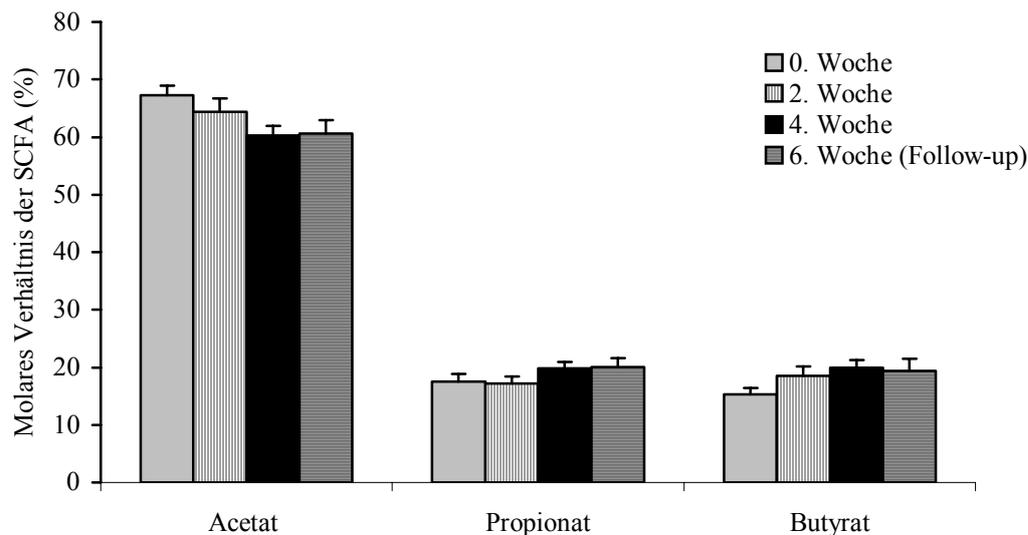


Abb. 4.5-3: Molares Verhältnis von Acetat, Propionat und Butyrat während des Versuchs. Mittelwerte \pm SEM, $n = 12$. (Durchschnittswerte aller Probanden)

3.5.6 Gallensäuren und neutrale Sterole

Die Steroide wurden in den Faeces der Probanden zum Versuchsbeginn (0. Woche), in der Versuchsmitte (2. Woche), am Versuchsende (4. Woche) sowie 14 Tage nach Versuchsende (6. Woche - „Follow-up“-Phase) bestimmt. Die Aufarbeitung des Faecesmaterials und die Analyse erfolgte wie beim Tierversuch. Es treten beim Menschen einige andere GS als bei der Ratte auf (z. B. $3\beta,12\alpha$ -Dihydroxycholansäure), während die Muricholsäuren beim Menschen nicht vorkommen.

3.5.6.1 Gallensäuren

In der 0. Woche, d.h. bei Versuchsbeginn, wurden von den Probanden $28,56 \pm 1,04 \mu\text{mol GS/g TM}$ ausgeschieden. Es zeigte sich, dass es bei Gabe des Haferextrudats zu einer kontinuierlichen Erhöhung der GS-Ausscheidung kommt. Im einzelnen stieg der Wert in der 2. Woche auf $31,38 \pm 1,02 \mu\text{mol/g TM}$ und in der 4. Woche auf $34,82 \pm 0,98 \mu\text{mol/g TM}$. Dieses ist eine signifikante Zunahme gegenüber der 0. Woche ($P < 0,001$). Zwei Wochen nach Beendigung der Hafergabe war die GS-Ausscheidung wieder fast auf den Ausgangswert gefallen ($28,98 \pm 0,98 \mu\text{mol/g TM}$). Die Veränderungen in der GS-Ausscheidung waren bei allen Probanden in der Tendenz gleich. Die relativ große Streubreite der Durchschnittswerte hat ihre Ursache in den großen individuellen Unterschieden in der GS-Zusammensetzung und in der Menge an ausgeschiedenen GS der einzelnen Probanden. Dieser Effekt wurde auch in den Einzelwerten für die Gesamt-GS der 12 Probanden in der 4. Woche deutlich (siehe Anhang; Abb. A4-13).

Es wurde ein breites Spektrum an GS in den Faeces gefunden. Dieses wird am Beispiel des Probanden 7 im Versuchsverlauf dargestellt (Abb. 4.5-4). Es zeigte sich, dass von der 0. bis zur 4. Woche besonders die Konzentrationen der primären Gallensäuren C und CDC zunahmen, während sich die Konzentrationen der wichtigsten sekundären GS kaum veränderten.

In Abb. 4.5-5 sind die Durchschnittswerte für die einzelnen GS aller Probanden von der 0. bis zur 6. Woche zusammengefasst. Die Konzentrationen der wichtigsten primären Gallensäuren C und CDC stiegen zunächst deutlich bis zur 4. Versuchswoche und nahmen dann in der 6. Woche wieder ab. Andererseits erhöhten sich die Konzentrationen der wichtigsten sekundären GS sehr gering bis zur 4. Woche.

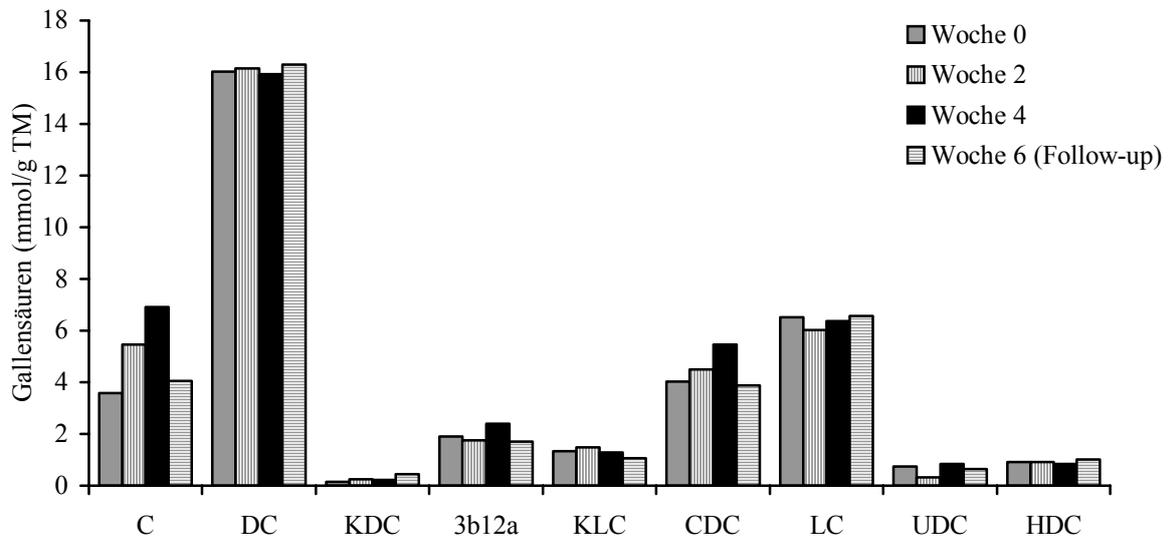


Abb. 4.5-4: Konzentration der einzelnen Gallensäuren in den Faeces des Probanden 7 im Verlauf des Versuchs.

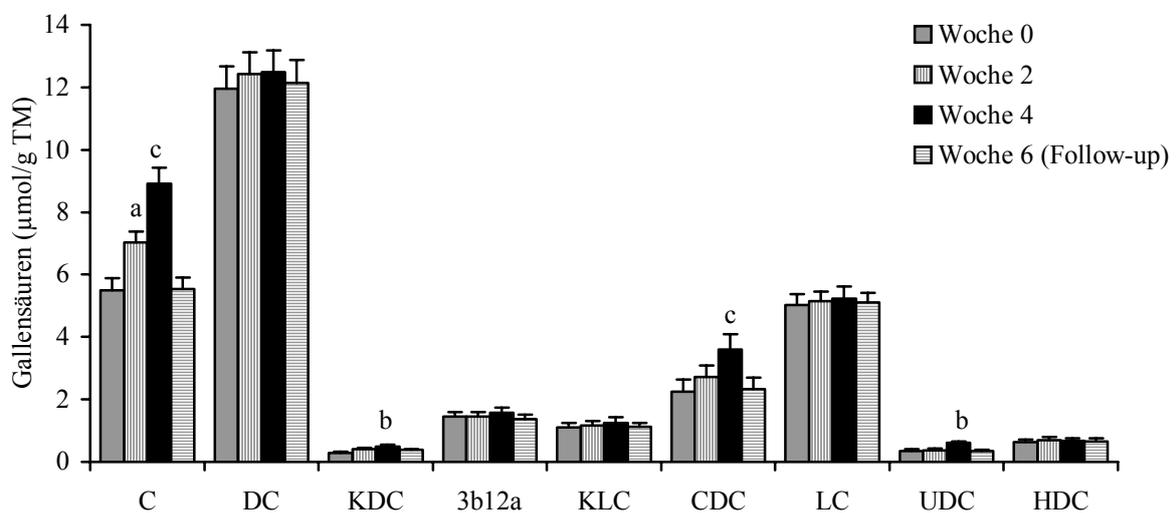


Abb. 4.5-5: Konzentration der einzelnen Gallensäuren in den Faeces in Verlauf des Versuchs. Mittelwerte \pm SEM, $n = 12$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber 0. Woche. (Durchschnittswerte aller Probanden)

Am Ende der 4. Woche wurden beispielsweise folgende durchschnittliche GS-Konzentrationen gefunden (in $\mu\text{mol/g TM}$): C = $8,91 \pm 0,50$, DC = $12,49 \pm 0,70$, KDC = $0,49 \pm 0,06$, $3\beta 12\alpha$ = $1,56 \pm 0,18$, KLC = $1,26 \pm 0,17$, CDC = $3,60 \pm 0,49$, LC = $5,23 \pm 0,39$, UDC = $0,61 \pm 0,05$ und HDC = $0,67 \pm 0,08$.

Dieses Bild ändert sich jedoch, wenn die prozentualen Anteile der einzelnen Gallensäuren aller Probanden im Versuch betrachtet werden (siehe Anhang; Abb. A4-14). Bis zur 4. Woche stiegen die Anteile der primären GS (C, KDC, CDC) in den Faeces während diejenigen der sekundären GS (DCA, $3\beta 12\alpha$, KLC, LC) abnahmen. In der 6. Woche tendierten die prozentualen Anteile aller GS wieder in Richtung der Werte in der 0. Woche. In der 4. Woche wurden durchschnittlich 25,91 % C, 35,69 % DC, 1,44 % KDC, 4,46 % $3\beta 12\alpha$, 3,65 % KLC, 10,13 % CDC, 15,08 % LC, 1,74 % UDC und 1,90 % HDC gefunden.

Diese Befunde weisen darauf hin, dass die Konzentrationen der primären GS sich im Verlauf der Gabe des BS-reichen Extrudats kontinuierlich erhöhten, während die Konzentrationen an sekundären GS nur gering zunahmten. In der "Follow-up Phase" verringerten sich beide Werte wieder (Abb. 4.5-6). Allgemein wurden in den Faeces aller Probanden mehr sekundäre als primäre GS festgestellt. In der 0. Woche wurden beispielsweise $8,37 \pm 0,41 \mu\text{mol}$ primäre und $20,19 \pm 0,96 \mu\text{mol}$ sekundäre GS/g TM bestimmt. Bei Darstellung der Durchschnittswerte der prozentualen Anteile der GS in den Faeces im Versuchsverlauf ergibt sich eine signifikante Zunahme der primären und eine Abnahme der sekundären GS während der Haferextrudatgabe in der 4. Woche (siehe Anhang; Abb. A4-15). So wurden in der 2. Woche 4,09 % und in der 4. Woche 9,74 % mehr primäre GS ausgeschieden als in der 0. Woche. Der prozentuale Anteil der GS, die zur Cholsäure- und zur Chenodesoxycholsäuregruppe gehören, änderte sich nicht im Verlauf des Versuchs. Durchschnittlich gehörten etwa 71 % der GS in den Faeces zur C-Gruppe.

3.5.6.2 Neutrale Sterole

Im Versuchsverlauf erhöhten sich zunächst die Gesamtkonzentrationen an NS in den Faeces von $83,97 \pm 4,26 \mu\text{mol/g TM}$ in der 0. Woche über $90,74 \pm 4,56 \mu\text{mol/g TM}$ in der 2. Woche auf $97,34 \pm 5,12 \mu\text{mol/g TM}$ in der 4. Woche. In der 6. Woche, d.h. 14 Tage nach Ende der Haferextrudatgabe, verminderte sich die ausgeschiedene Menge an Gesamt-NS wieder auf $84,74 \pm 4,23 \mu\text{mol/g TM}$. In der 4. Woche wurde im Trend eine Zunahme gegenüber der 0. Woche festgestellt ($P = 0,11$). Die Ursache für die große Streubreite sind auch hier die starken Unterschiede in der Konzentration an ausgeschiedenen Gesamt-NS zwischen den 12 Probanden bereits in der 0. Woche. Diese lag beispielsweise beim Probanden 7 fast doppelt so hoch wie beim Probanden 2. An Hand von drei ausgewählten Probanden wird gezeigt, dass bei allen Teilnehmern der Studie sich von der 0. bis zur 4. Woche die NS-Ausscheidung erhöht und dann wieder (in der "Follow-up-Phase") vermindert (Abb. 4.5-7). Die Unterschiede zwischen den Probanden wirkten sich auch auf die Streubreite bei den einzelnen analysierten NS aus.

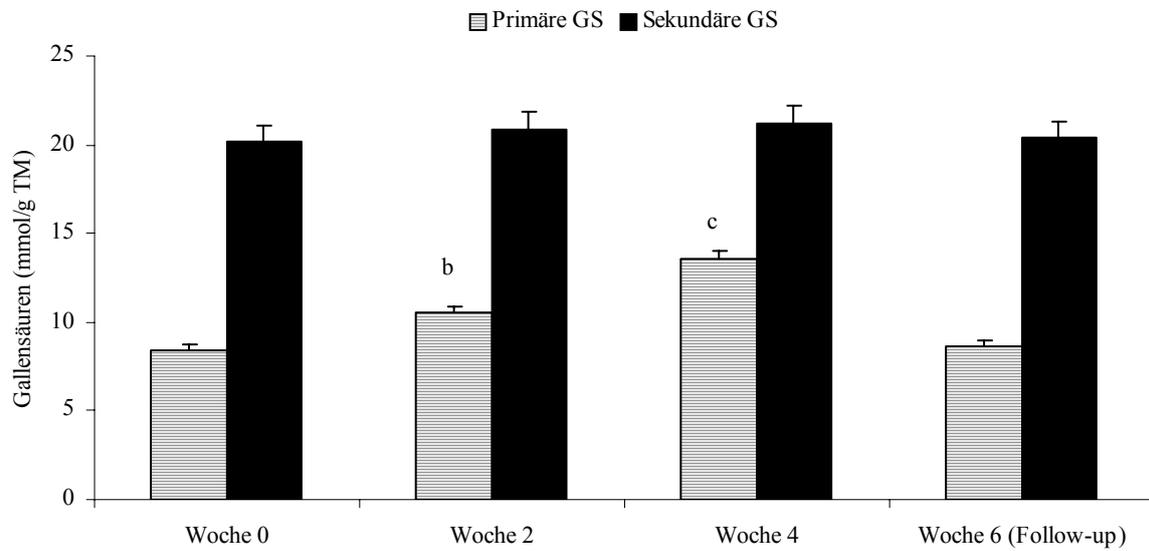


Abb. 4.5-6: Konzentrationen an primären und sekundären Gallensäuren in den Faeces im Verlauf des Versuchs. Mittelwerte \pm SEM, $n = 12$. ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber 0. Woche. (Durchschnittswerte aller Probanden)

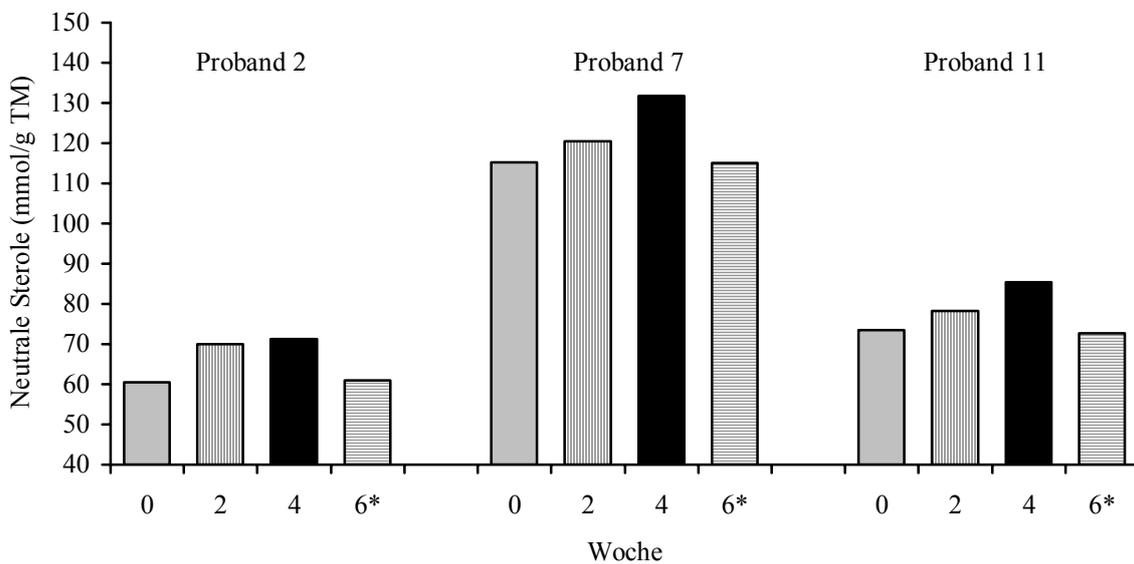


Abb. 4.5-7: Konzentration der gesamten neutralen Sterole in den Faeces von der 0. bis zur 6. Woche bei 3 ausgewählten Probanden; * "Follow-up Phase".

Das dominierende NS in den Faeces war Coprostanol gefolgt von Cholesterol. Coprostanon und Cholestanon wurden in deutlich geringeren Mengen gefunden (Abb. 4.5-8).

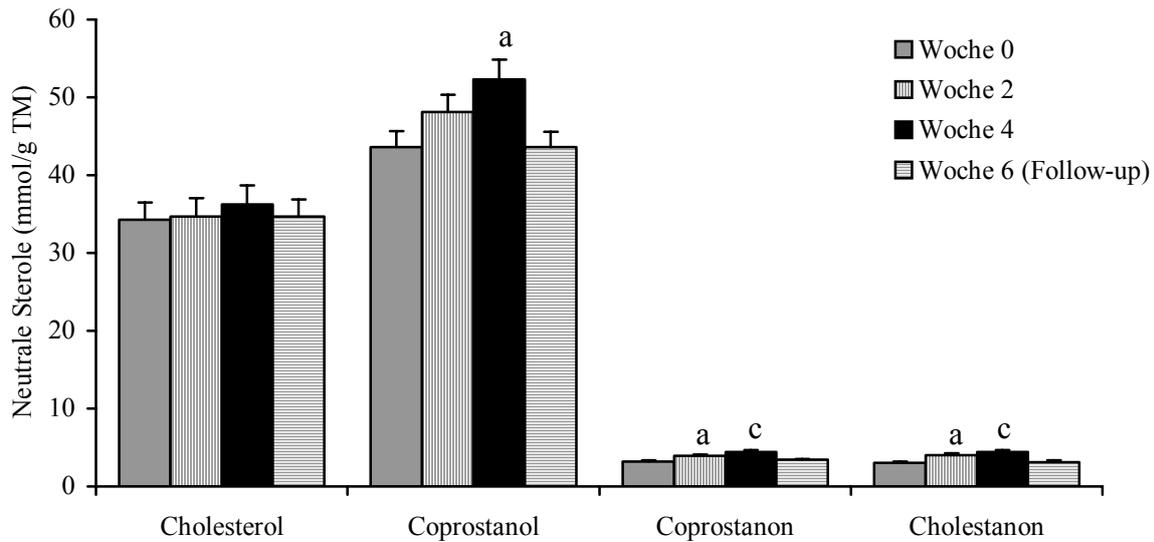


Abb. 4.5-8: Konzentration der einzelnen neutralen Sterole in den Faeces während des Gesamtversuchs. Mittelwerte \pm SEM, $n = 12$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber 0. Woche. (Durchschnittswerte aller Probanden)

Die Konzentrationen aller NS erhöhten sich bis zur 4. Woche. Signifikant war die Zunahme an Coprostanol in der 4. Woche ($P < 0,05$) sowie der beiden Keto-NS während der Haferextrudatgabe. Insgesamt ist festzustellen, dass sich von der 0. bis zur 4. Woche der prozentuale Anteil an Cholesterol signifikant verminderte, während sich der Anteil der Cholesterol-Metabolite erhöhte. Der Anteil der Cholesterol-Metabolite veränderte sich im Verlauf des Versuches in folgender Weise:

0. Woche = $59,39 \pm 0,92$ %, 2. Woche = $62,04 \pm 1,09$ %, 4. Woche = $63,00 \pm 1,05$ % und 6. Woche = $59,31 \pm 0,94$ %. In der 4. Woche wurde ein signifikant höherer prozentualer Anteil an Cholesterol-Metaboliten und niedrigerer Anteil an Cholesterol gefunden ($P < 0,05$). In der 4. Woche wurde im Vergleich zur 0. Woche eine Zunahme von durchschnittlich $1,97$ μmol Cholesterol und $11,41$ μmol Cholesterol-Metabolite pro Gramm TM in den Faeces bestimmt.

3.5.6.3 Gesamtsteroide

Die Konzentration an ausgeschiedenen Gesamtsteroiden (d.h. die Summe aus den Gesamt-GS und den Gesamt-NS) erhöhte sich in von der 0. Woche mit $112,53 \pm 5,00$ $\mu\text{mol/g}$ TM signifikant auf $132,17 \pm 0,03$ $\mu\text{mol/g}$ TM in der 4. Woche ($P = 0,030$) (Abb. 4.5-9). Insgesamt wurden in der 2. Woche bzw. 4. Woche durchschnittlich $9,56$ bzw. $18,49$ $\mu\text{mol/g}$ TM mehr Gesamtsteroiden, also während der Gabe des Haferextrudats, ausgeschieden als vor Versuchsbeginn ($P < 0,001$). Dieses entsprach einer Zunahme um durchschnittlich $8,65$ bzw. $16,53$ %.

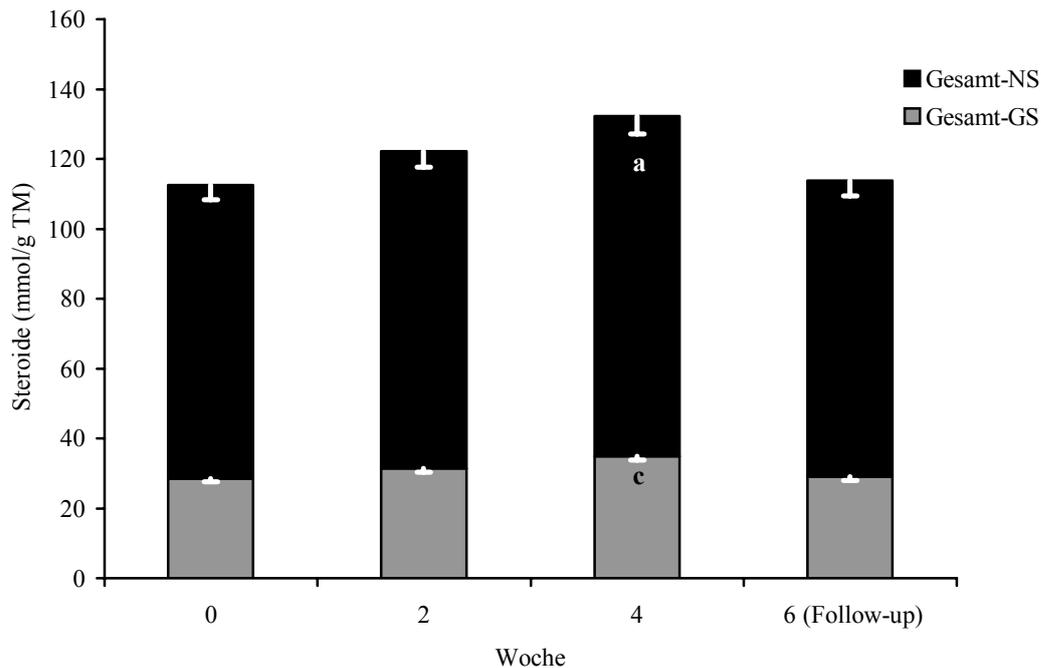


Abb. 4.5-9: Gesamtsteroiden sowie gesamte Gallensäuren und neutrale Sterole in den Faeces von der 0. bis zur 6. Woche in den Faeces. Mittelwerte \pm SEM, $n = 12$. ^a $P < 0,05$, ^c $P < 0,001$ gegenüber 0. Woche. (Durchschnittswerte aller Probanden)

Wie im Tierversuch wurde auch in der Pilotstudie am Menschen gefunden, dass bei Gabe des BS-reichen Haferextrudats eine erhöhte Ausscheidung von Steroiden auftritt. Dieser Effekt trat 2 Wochen nach Beendigung der Intervention ("Follow-up Phase") nicht mehr auf.

3.6 Histologie und Immunhistochemie

3.6.1 Ermittlung der Dicke der Darmwandschichten

Es wurde die Dicke von Tunica mucosa (TMC), Tela submusosa (TS) und Tunica muscularis (TML) des proximalen und distalen Colons (Abb. 3.5-2) histologisch untersucht.

Im proximalen Colon wiesen die Tiere der Gruppe M, K und KN signifikant stärkere Darmwände im Vergleich zur Kontrolle auf (Abb. 4.6-1, Tab. 4.6-1). Bei der Gruppe MN wurden ebenso stärkere Wände ermittelt, die Differenz ließ sich jedoch statistisch nicht absichern. Bei der Gruppe M# wurden in der Dicke der Darmwand keine Veränderungen gegenüber der Kontrolle S gemessen (Tab. 4.6-1).

Die Darmwände des distalen Colons waren bei den Versuchstieren mit Ausnahme der Gruppe M# signifikant stärker. Bei der Gruppe M# wurde eine signifikant dünnere Darmwand ermittelt (Abb. 4.6-1, Tab. 4.6-1).

Die TMC war im proximalen Colon in den Gruppen M, K und KN signifikant stärker, in den Gruppen MN und M# war sie im Vergleich zur Kontrolle unverändert (Tab. 4.6-1).

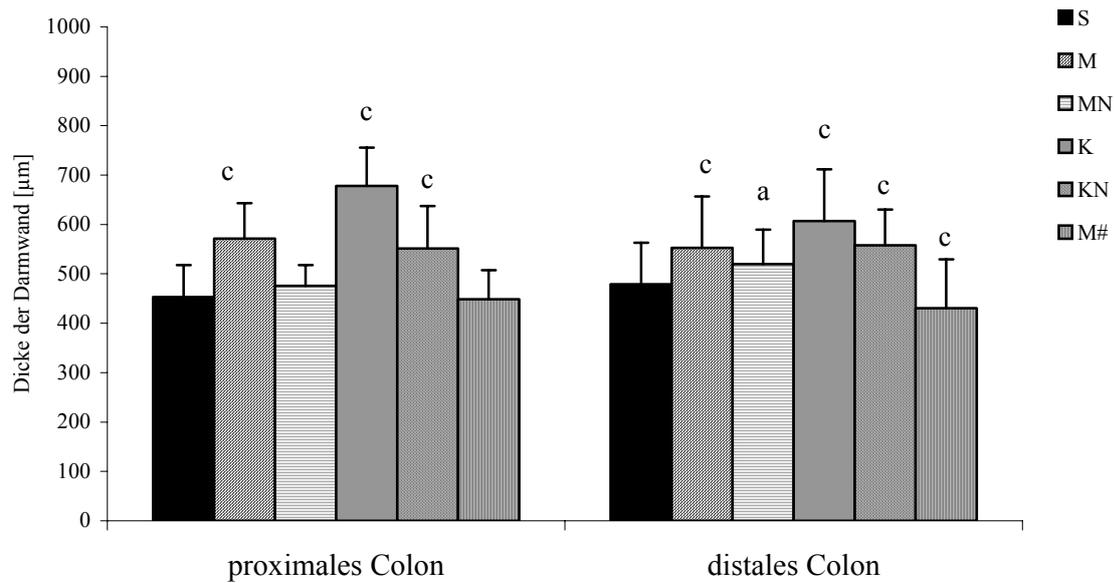


Abb. 4.6-1 Dicke der Darmwand des proximalen und distalen Colons in der Kontrollgruppe S sowie in den Versuchsgruppen M-M#. (^a $P < 0,05$; ^c $P < 0,001$; signifikant verschieden von der Kontrolle im selben Colonabschnitt).

Tab. 4.6-1 Dicke einzelner Darmwandschichten bei Kontroll- und Versuchstieren (in µm)

Gruppe	proximales Colon					
	TMC	LEM+LPM	LMM	TS	TML	Darmwand
S	227,2±42,9	211,0±40,5	16,2±5,2	23,9±6,6	201,9±64,0	453,0±84,0
M	292,0±36,9 ^c	268,4±36,7 ^c	23,6±12,6 ^b	25,9±8,6	253,6±84,0 ^a	571,4±104,2 ^c
MN	233,0±40,0	218,4±40,0	14,5±5,4	25,6±8,4	217,1±60,0	475,7±69,9
K	344,4±57,8 ^c	308,5±54,2 ^c	35,9±7,8 ^c	31,8±11,8 ^b	301,9±62,7	678,0±105,2 ^c
KN	275,9±63,9 ^b	258,0±55,5 ^c	17,9±10,5	25,0±10,0	250,5±59,8 ^b	551,5±72,4 ^c
M#	233,0±46,1	211,2±48,0	21,8±6,3 ^c	31,3±13,5 ^a	184,6±72,9	448,9±98,6

Gruppe	distales Colon					
	TMC	LEM+LPM	LMM	TS	TML	Darmwand
S	246,7±39,3	213,4±40,1	33,3±11,2	27,0±9,8	205,2±58,1	478,8±64,5
M	286,7±39,2 ^c	255,8±32,9 ^c	30,9±9,4	34,5±12,2 ^a	231,6±40,9 ^a	552,8±71,6 ^c
MN	284,0±34,6 ^c	252,3±33,9 ^c	31,7±8,9	22,1±4,0	213,7±49,9	519,8±42,3 ^a
K	326,4±40,0 ^c	252,2±33,0 ^c	75,3±29,0 ^c	47,6±28,8 ^c	230,1±53,5	606,8±77,5 ^c
KN	305,9±36,6 ^c	270,0±36,3 ^c	36,0±19,1	27,5±13,1	224,5±63,4	557,9±86,1 ^c
M#	236,6±36,7	216,9±34,4	19,7±7,6 ^a	22,8±5,6	171,4±38,1 ^a	430,8±58,2 ^c

Tunica mucosa (TMC) = Lamina epithelialis mucosae (LEM) + Lamina propria mucosae (LPM) + Lamina muscularis mucosae (LMM); TS, Tela submucosa; TML, Tunica muscularis. (^a $P < 0,05$; ^b $P < 0,005$; ^c $P < 0,001$; signifikant verschieden von der Kontrolle im selben Colonabschnitt; n=8)

Die TMC des distalen Colons war bei den Tieren, die eine ballaststoffreiche Diät erhielten, signifikant verstärkt. Die Ausnahme bildete die Gruppe M#, in der diese Schicht dünner war als in der Kontrollgruppe (Tab. 4.6-1).

3.6.2 Anzahl der Becherzellen und Mucinzusammensetzung

Es wurde die Anzahl der Becherzellen und die Zusammensetzung der Mucine in den Krypten des proximalen und distalen Colons untersucht.

In den Krypten des proximalen Colons waren Becherzellen überwiegend mit neutralen Mucinen von der Kryptenbasis bis zur Mitte der Krypte zu finden, die sauren Mucine kamen überwiegend in der oberen Hälfte bis zum Lumen vor (Abb. 3.5-1). Im distalen Colon waren die neutralen Mucine in den unteren 20-30 % der Krypten detektierbar, den Rest bis zum Lumen bildeten die sauren Mucine.

Es wurden in beiden Colonabschnitten, mit Ausnahme der Gruppen MN und M#, signifikant mehr Becherzellen pro Krypte im Vergleich zur Kontrolle nachgewiesen (Tab. 4.6-2).

Tab. 4.6-2 Anzahl der Becherzellen mit neutralen und sauren Mucinen pro Krypte

Gruppe	S	M	MN	K	KN	M#
proximales Colon						
BZ-NM	18,6±4,2	18,3±4,9	13,1±5,8 ^c	18,9±3,9	18,8±4,9	14,2±6,7 ^a
BZ-SM	17,7±3,8	21,4±5,1 ^c	23,3±7,2 ^c	23,7±5,7 ^c	23,5±6,8 ^c	21,7±3,5 ^c
Gesamtzahl	36,3±5,8	39,4±5,6 ^a	36,4±6,9	42,6±6,2 ^c	42,2±8,9 ^b	35,9±8,8
distales Colon						
BZ-NM	9,8±5,7	12,8±3,7 ^a	7,2±2,6 ^a	7,6±2,7 ^a	12,8±3,8 ^a	5,9±3,4 ^c
BZ-SM	20,2±4,4	22,9±4,9 ^a	24,5±8,4 ^c	29,3±5,1 ^c	27,0±7,4 ^c	20,7±7,2
Gesamtzahl	30,0±8,0	35,7±5,4 ^b	31,6±7,9	36,9±6,0 ^c	39,8±8,2 ^c	26,6±7,5

BZ-NM, Becherzellen mit neutralen Mucinen; BZ-SM, Becherzellen mit sauren Mucinen. (^a $P < 0,05$; ^b $P < 0,005$; ^c $P < 0,001$; signifikant verschieden von der Kontrolle im selben Colonabschnitt; n = 8)

Die Gruppen MN und M# wiesen im proximalen Colon signifikant weniger Becherzellen mit neutralen Mucinen als die Kontrollgruppe auf. Bei den übrigen Gruppen blieb die Anzahl der Becherzellen mit neutralen Mucinen unverändert. Demgegenüber war die Zahl der Becherzellen mit sauren Mucinen in diesem Colonabschnitt bei allen Versuchsgruppen signifikant erhöht (Tab. 4.6-2).

Das Verhältnis von neutralen zu sauren Mucinen hat sich demnach bei Gabe der ballaststoffhaltigen Diäten zum Vorteil der sauren Mucine verschoben. Mit Ausnahme der Gruppe M waren diese Veränderungen signifikant (Abb. 4.6-2).

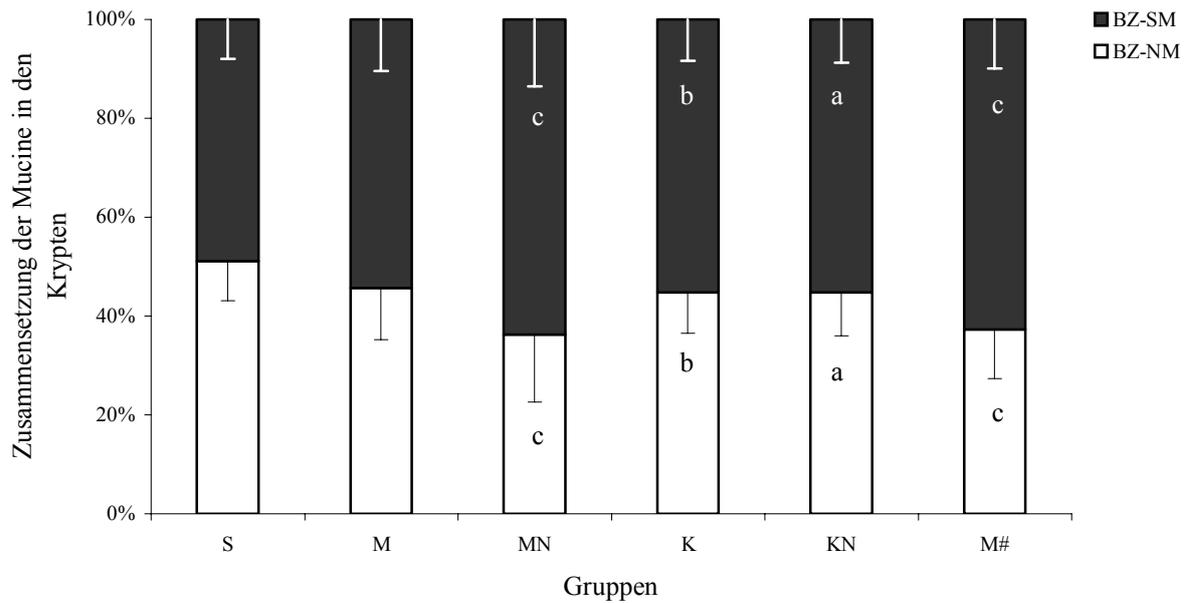


Abb.: 4.6-2 Prozentualer Anteil der Becherzellen mit neutralen und sauren Mucinen im proximalen Colon bei den Kontroll- und Versuchstieren. BZ-NM, Becherzellen mit neutralen Mucinen; BZ-SM, Becherzellen mit sauren Mucinen.
^(a) $P < 0,05$; ^(b) $P < 0,005$; ^(c) $P < 0,001$; signifikant verschieden von der Kontrolle; n=8)

Im distalen Colon wurde eine signifikant erhöhte Anzahl an Becherzellen mit neutralen Mucinen in den Gruppen M und KN ermittelt. Hingegen waren diese in den übrigen Versuchsgruppen im Vergleich zur Kontrolle signifikant vermindert (Tab. 4.6-2). Die Anzahl an Becherzellen mit sauren Mucinen war in diesem Abschnitt bei allen Versuchsgruppen, mit Ausnahme der Gruppe M#, signifikant erhöht (Tab. 4.6-2).

Bei den Kontrolltieren betrug das Verhältnis von neutralen Mucinen zu sauren Mucinen im distalen Colon 32,5 : 67,4 (Abb. 4.6-3). Somit hat es sich im Vergleich zum proximalen Colon (Abb. 4.6-2) zu Gunsten der sauren Mucine bei allen Versuchsgruppen verschoben. Diese Veränderungen waren in den Gruppen MN, K sowie M# am stärksten ausgeprägt (Abb. 4.6-3). Bei den Gruppen KN und M wurden keine signifikanten Veränderungen in der Mucinzusammensetzung gegenüber der Kontrolle beobachtet (Abb. 4.6-3).

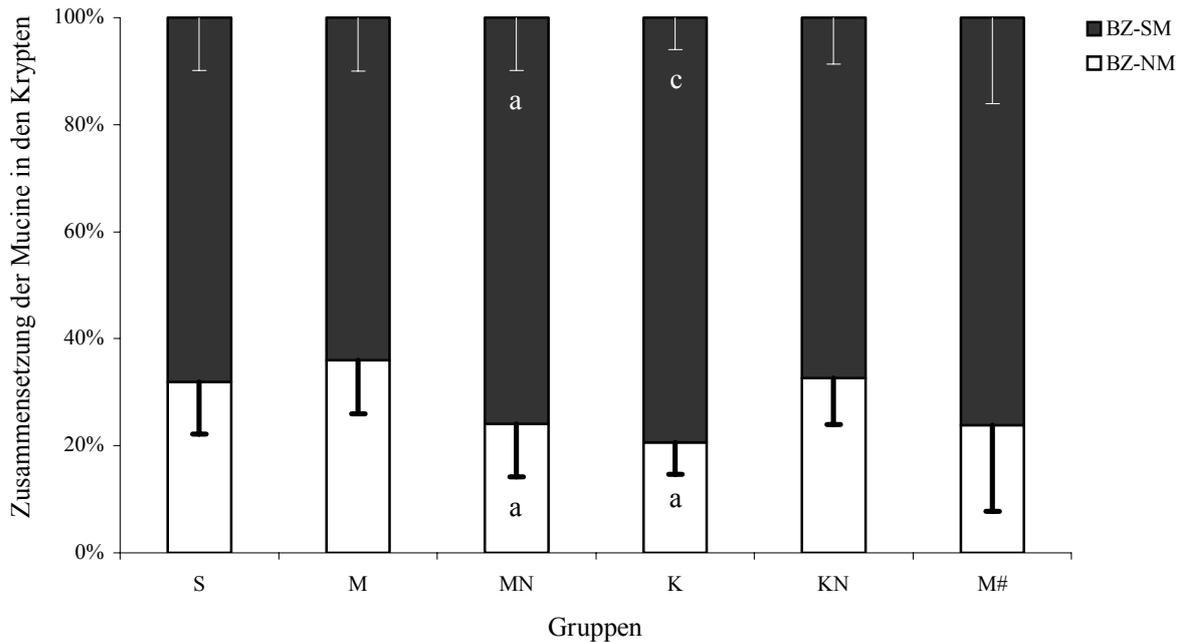


Abb.: 4.6-3 Prozentualer Anteil der Becherzellen mit neutralen und sauren Muzinen im distalen Colon bei den Kontroll- und Versuchstieren. BZ-NM, Becherzellen mit neutralen Mucinen; BZ-SM, Becherzellen mit sauren Mucinen. (^a $P < 0,05$; ^b $P < 0,005$; ^c $P < 0,001$; signifikant verschieden von der Kontrolle; $n=8$)

3.6.3 Anzahl der mitotischen und apoptotischen Zellen

Sowohl im proximalen als auch im distalen Colon war die Anzahl der mitotischen Zellen unter den ballaststoffreichen Diäten höher als bei den jeweiligen Kontrollen (Abb. 4.6-4 und 4.6-5). Bis auf die Gruppe M# waren diese Unterschiede signifikant.

Für die Zahl der aktiven-Caspase-3 positiven Zellen (Abb. 4.6-6A und Abb. 4.6-6B) wurden im proximalen Colon in den Versuchsgruppen nur geringe Unterschiede gegenüber der Kontrolle ($10,0 \pm 2,4$ Zellen) detektiert. Die Ausnahme bildete die Gruppe K, die mit einer Anzahl von $6,7 \pm 1,5$ positiv reagierenden Zellen signifikant weniger apoptotische Zellen aufwies (Abb. 4.6-4).

Demgegenüber war im distalen Colon die Anzahl der apoptotischen Zellen (Abb. 4.6-7A und Abb. 4.6-7B) in allen Futtergruppen ($3,9 \pm 1,7$ bis $6,6 \pm 1,7$ Zellen) im Vergleich zur Kontrolle S ($10,0 \pm 4,2$) signifikant vermindert (Abb. 4.6-5).

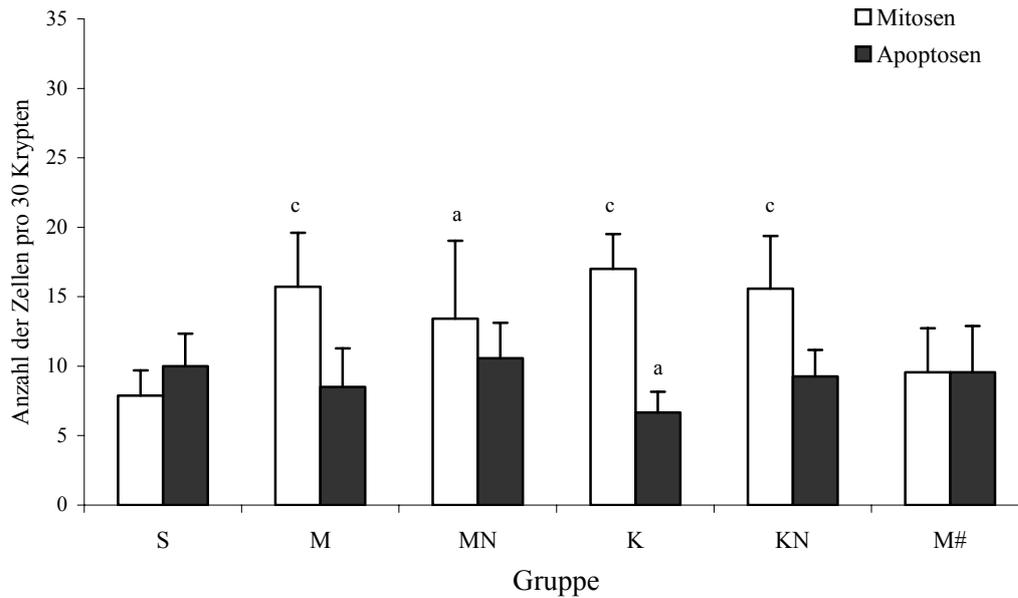


Abb.: 4.6-4 Anzahl der mitotischen und apoptotischen Zellen im proximalen Colon bei den Kontroll- und Versuchstieren. (^a $P < 0,05$; ^c $P < 0,001$; signifikant verschieden von der Kontrolle; $n=6-8$).

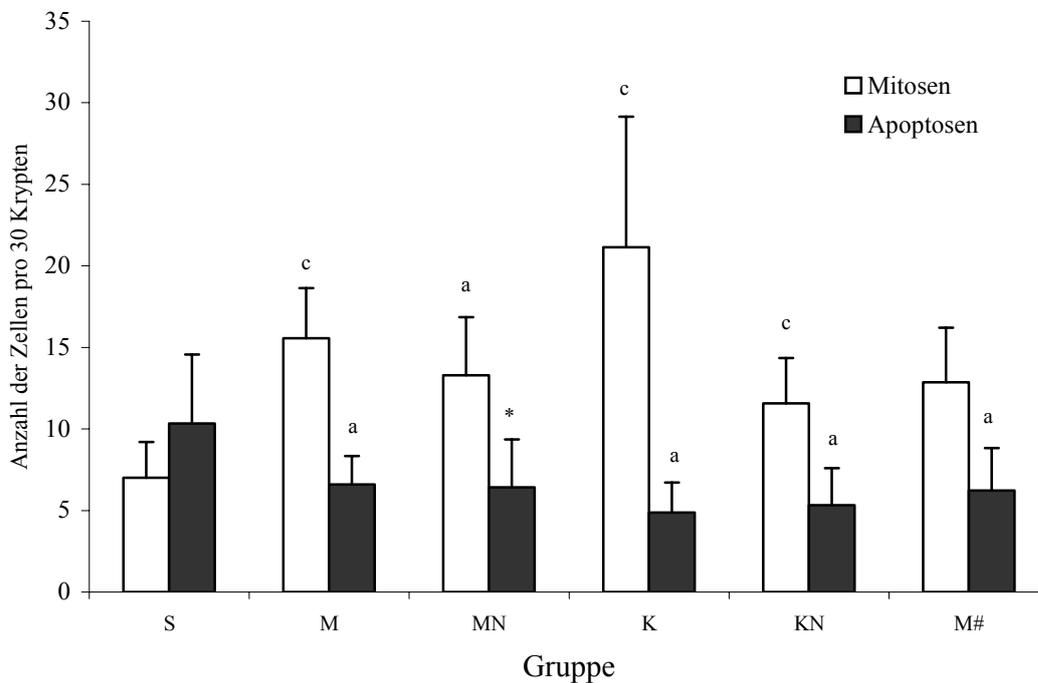


Abb.: 4.6-5 Anzahl der mitotischen und apoptotischen Zellen im distalen Colon bei den Kontroll- und Versuchstieren. (^a $P < 0,05$; ^b $P < 0,005$; ^c $P < 0,001$; * $P = 0,099$, signifikant verschieden von der Kontrolle; $n = 6-8$).

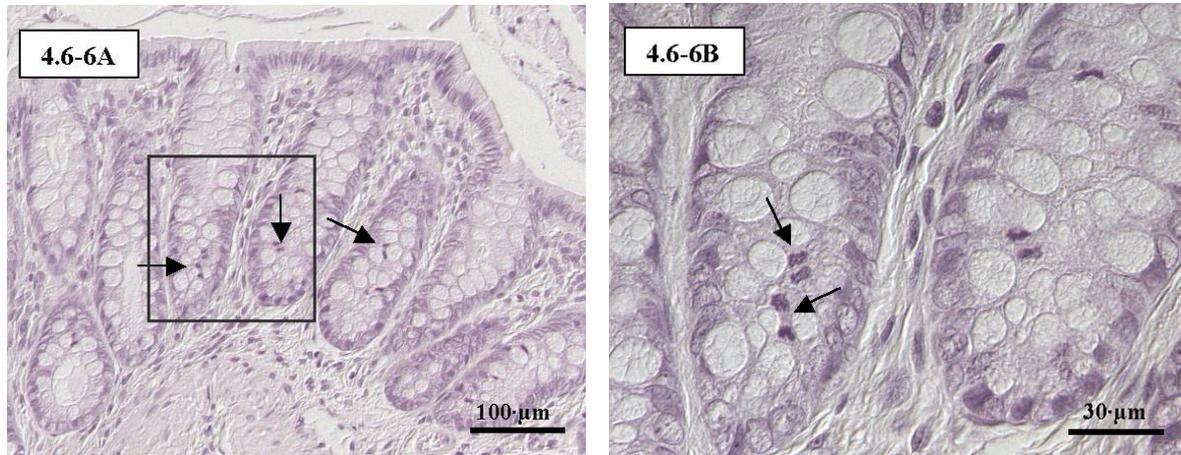


Abb. 4.6-6A; 4.6-6B: Proliferierende Zellen im distalen Colon (Pfeile, exemplarisch) am Beispiel eines Hematoxylin-gefärbten Gewebeschnittes eines Kontroll-tiers (A). Detaillierte Ansicht (B).

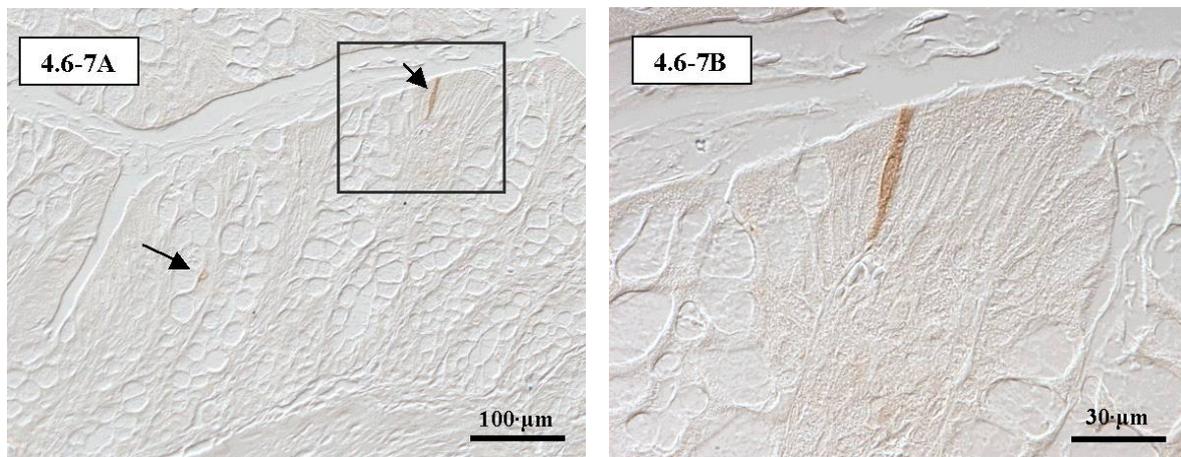


Abb 4.6-7A; 4.6-7B: Apoptotische Zellen im distalen Colon (Pfeile, exemplarisch) am Beispiel eines mit Antikörper gegen die aktive Caspase-3 gefärbten Gewebeschnittes eines Kontrolltiers (A). Detaillierte Ansicht (B).

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, neue Erkenntnisse über die ernährungsphysiologischen Wirkungen von multifunktionellen Lebensmitteln auf der Basis von Hafer, die mit BS angereicht wurden, zu gewinnen. Es sollten direkt verzehrfähige BS-reiche Haferprodukte, vorwiegend Extrudate, mit hohem Gehalt an β -Glucanen und RS hergestellt, analysiert und auf ihre physiologischen Effekte hin getestet werden.

4.1 Charakterisierung der Haferprodukte sowie der extrudierten und autoklavierten Haferproben (technologische Versuche)

In verschiedenen Arbeiten wurde gezeigt, dass nach enzymatischer Entzweigung von amylopektinreichen Stärken und kontrolliertem Abkühlen oder bei Anwendung von optimierten Retrogradationsbedingungen aus α -(1 \rightarrow 4)-Glucanen (Polymerisationsgrad 10-35) Präparate mit hohem Anteil an RS zu gewinnen sind (Schmiedl *et al.*, 2000; Rössler *et al.*, 2002). Im Unterschied zur Gerste (Huth *et al.*, 2000) gelang es nicht, eine deutliche Menge an RS durch Extrusion in den Haferprodukten zu generieren (siehe Anhang, Tab. A4-1).

Eine Ursache für die geringe Bildung von RS während der Extrusion ist der relativ hohe Fettgehalt des Hafers, der die Aufnahme der eingeleiteten Energie in die zu extrudierende Masse behindert. So wurde bei der Extrusion von sortenreinem Hafer beobachtet, dass höhere Anteile an RS bei der Extrusion entstehen, wenn der Fettgehalt der Präparate geringer ist (Gebhardt *et al.*, 2004).

Um die verminderte Energieabsorption, die beim Extrudieren der fettreichen Haferproben auftritt, zu umgehen, wurde vergleichsweise der Einfluss des Autoklavierens auf die Bildung von RS untersucht. Es scheint auch beim Autoklavieren einen Einfluss des Fettgehaltes auf die Bildung von RS zu geben. Eine Bildung von RS oberhalb von 1 % trat erst bei Temperaturen von ≥ 130 °C bei einstündigem Autoklavieren auf (Gebhardt *et al.*, 2004).

Eine mehrtägige Kühl- oder Tiefkühlagerung der Haferextrudate erhöhte den Gehalt an RS ebenfalls nicht, obwohl in der Literatur ähnliche Effekte mit Gerstenextrudaten beschrieben sind (Huth *et al.*, 2000).

Die Erhöhung des RS-Gehaltes in den Haferextrudaten wurde durch Anreicherung des Prämixes mit handelsüblichen RS 3-Präparaten (Novelose 330[®]) erzielt. Erhöhte Gehalte an β -Glucan wurden auch durch den Einsatz von Backhaferkleie („Haferkleie“) erreicht.

4.2 *In-vitro*-Testung der Haferproben

Um die funktionellen und physiologischen Eigenschaften von Haferprodukte *in vitro* zu beurteilen, wurden aus Gemischen von Vollkorn-Hafermehl, Haferkleie und Novelose 330[®] Produkte bzw. Extrudate hergestellt und untersucht.

Die Wasserbindung ist eine wichtige funktionelle Eigenschaft von Ballaststoffpräparaten. Die Aufnahme von Wasser bzw. die Bindung von Wasser ist zunächst ein wichtiger lebensmitteltechnologischer Effekt. Darüber hinaus ist auch aus ernährungsphysiologischer Sicht ein hohes bzw. erhöhtes Wasserbindungsvermögen wesentlich. So erweist sich der Anteil an gebundenem und immobilisiertem Wasser als entscheidend für die Wechselwirkungen der gequollenen ballaststoffhaltigen Produkte mit verschiedenen organischen Substanzen im Gastrointestinaltrakt. Mit der Bindung von Wasser wird in vielen Fällen die Viskosität der Systeme erhöht. Im Magen verändern viskose Systeme die Verweilzeit und wirken auf die Sättigung. Gequollene und viskose Produkte sind in der Lage, die Verdauung von Stärke, Proteinen und Lipiden sowie die Resorption von deren Abbauprodukten zu beeinflussen. Das Ausmaß dieser im Dünndarm ausgeübten Effekte hängt von der Menge und der Art der Ballaststoffe ab. Sie beeinflussen die Konsistenz des Coloninhalts und verkürzen die Transitzeit. Insgesamt sind derartige Einflüsse erwünscht. Die Wasserbindungskapazität der Original-Extrudate lag zwischen 4 und 5 g H₂O/g Probe. Bourquin *et al.* (1996) fanden eine ähnliche Wasserbindungskapazität bei Hafer-BS. Somit wird im Dünndarm eine deutliche Menge an Wasser durch die Haferprodukte gebunden. Das Ausmaß der Wasserbindung hängt von verschiedenen strukturellen Faktoren der Ballaststoffe ab, wie dem Molekulargewicht, der Saccharidzusammensetzung und den Bindungsarten zwischen den Saccharideinheiten der Polysaccharide, Lösungszustand der Polysaccharide, Vorhandensein und Zerstörungsgrad der gewachsenen Zellwandmatrix, und der Zeit, in der die Messung erfolgt. Diese betrug bei der ausgewählten Methode nur wenige Minuten. In den verdauten Extrudaten war demgegenüber die Wasserbindung auf 2-3 g H₂O/g Probe gesunken. Das weist darauf hin, dass die abgetrennte verdauliche Stärke einen wesentlichen Beitrag für die Wasserbindung der Original-Extrudate liefert. Diese Werte sind zwar nicht hoch, da aber die „Zellwandgerüste“ der Haferprodukte nicht vollständig *in vivo* fermentiert werden können, tragen sie zu einem höheren Feuchtigkeitsanteil und zu einem Verdünnungseffekt von (toxischen) Substanzen im Coloninhalt sowie zu einer Verminderung der Transitzeit bei. Unter den Messbedingungen sind offensichtlich besonders die „Zellwandgerüste“ und die Wasserbindung beteiligt. Polysaccharide wie β -Glucane oder Arabinogalactane waren unter den gewählten Bedingungen nur in geringem Maße in Lösung gegangen und beeinflussten somit die Wasserbindung nur geringfügig.

Bekanntlich können makromolekulare, viskose Ballaststoffe die Verdauung von Stärke im Dünndarm durch die körpereigenen Enzyme verlangsamen (Leclere *et al.*, 1994; Ellis *et al.*, 1996; Tudorica *et al.*, 2002). Es wird diskutiert, ob dadurch der Blutglucosepeak abgeflacht wird, ein Effekt, der für Diabetiker wichtig ist. Die verdauten Extrudate enthalten sowohl lösliche als auch unlösliche BS. Unter den

Versuchsbedingungen war der Stärkeabbau, im Vergleich zur Maisstärke (100 %), in Gegenwart ballaststoffreicher Haferprodukte um bis zu ca. 20 % vermindert. Dieser Befund könnte auf eine mögliche Abflachung des postprandialen Glucosepeaks während des Stärkeabbaus im Dünndarm hinweisen. Eine ähnliche Wirkung wurde auch gefunden, wenn der enzymatische Abbau der Maisstärke in Gegenwart einer Alkohol-unlöslichen Substanz (AUS) aus Äpfeln, die vorwiegend aus unlöslichen BS (Zellwand-Polysaccharide) (Dongowski & Sembries, 2001) besteht, oder von löslichem, hochverestertem, makromolekularem Pektin erfolgte. Diese Ergebnisse zeigen, dass sich die BS-Komponenten aus den Hafereextrudaten ähnlich den BS-Komponenten aus Obst oder Gemüse auf die Glucosefreisetzung aus verdaulicher Stärke verhalten.

Es ist bekannt, dass bestimmte Ballaststoffe wie isolierte Pektine (Dongowski, 1995, 1997) unter den Bedingungen des Gastrointestinaltraktes Wechselwirkungen (WW) mit GS eingehen (Agte & Joshi, 1991; Dongowski, 1995; Hoagland & Pfeffer, 1987), die in einer geringeren Rückresorption, einem erhöhten Transport der GS in das Colon (Zhang *et al.*, 1993), einer veränderten mikrobiellen Umwandlung sowie einer erhöhten faecalen Ausscheidung der GS resultieren (Dongowski & Ehwald, 1999; Huang & Dural, 1995; Mongeau & Brassard, 1982). Weil der GS-Pool des Menschen nur etwa 3-5 g beträgt und GS für jede Fettverdauung erforderlich sind, müssen die ausgeschiedenen GS in der Leber aus dem Cholesterin neu gebildet werden. GS üben eine Rückhemmung auf ihre Synthese aus; sie werden vermehrt ausgeschieden und damit erhöht sich ihre Neubildung. Dieser Effekt wurde beispielsweise bei Einnahme von Haferglucanen beobachtet (Andersson *et al.*, 2002). Deshalb gibt es einen Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von GS und der Senkung des Serumcholesterinspiegels (speziell der LDL-Fraktion) bei Individuen, die einen erhöhten Cholesterinspiegel besitzen (Braaten *et al.*, 1994; Garcia-Diez *et al.*, 1996; Judd & Truswell, 1981). Es gibt verschiedene Untersuchungen, die sich mit WW zwischen isolierten BS und GS *in vitro* befassen. Jedoch wurde der Einfluss der gewachsenen, biologischen Zellwandstruktur auf die WW mit GS nur in wenigen Studien belegt. Chemische Bindungen zwischen einigen BS und GS erscheinen prinzipiell möglich, sind aber bisher nicht belegt (Bowles *et al.*, 1996). Offensichtlich spielen Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophile und hydrophobe Effekte und mit der Viskosität der BS verbundene Wirkungen (langsamere Verdauung der Nährstoffe, Behinderung der Resorption sowohl der Nährstoffe als auch der Steroide usw.) eine wesentliche Rolle in der Komplexität der WW. Ferner wurde gefunden, dass die Partikelgröße und die Oberfläche von Getreide-BS positiv mit einer GS-Absorption korrelieren (Mongeau & Brassard, 1982). Extrudierte Gerstenprodukte zeigten eine intensivere WW mit GS als unbehandeltes Gerstenmehl, wobei die WW bei niedrigen pH-Werten stärker waren. Intensivere Interaktionen wurden mit Dihydroxy-GS im Vergleich zu Trihydroxy-GS gemessen (Huth *et al.*, 2000). Sogenannte „Cellanpräparate“ aus Äpfeln und anderen pflanzlichen Quellen waren auch zur Bindung von GS und Emulsionen befähigt (Dongowski & Ehwald, 1999). Hierbei zeigten sich ebenfalls Einflüsse durch die Art des pflanzlichen Materials, die pH-abhängig waren.

WW zwischen den (verdauten) Haferextrudaten und Gallensäuren unter den pH-Bedingungen des Dünndarms sind von folgenden Einflussgrößen besonders abhängig: Milieubedingungen (pH-Wert), Struktur der Gallensäuren und der Zusammensetzung der BS. Huang & Dural (1995) fanden heraus, dass die WW stärker bei sauren pH-Werten, tieferen Temperaturen und hoher Hydrophobizität der GS werden. Die Bindung der GS erhöhte sich in den eigenen Untersuchungen mit abnehmendem Anteil an Hafermehl und zunehmendem Anteil an Kleie in den Extrudaten. Dieser Befund weist darauf hin, dass die ursprünglich in der Pflanze vorkommende Struktur, die nach der Verdauung in Kleie besser erhalten ist als im Mehl, einen positiven Einfluss auf die WW mit GS ausübt. Es ist weiterhin interessant, dass das Ausmaß der GS-Bindung mit dem Anteil an Gesamt-BS, unlöslichen BS sowie an β -Glucan, jedoch nicht mit dem Anteil an löslichen Ballaststoffen in den Extrudaten anstieg.

Rechnet man die gefundenen Werte auf einen Verzehr von 100 g Extrudat pro Tag hoch, kann mit einem Transport von 2 bis 4 mmol GS aus dem Dünndarm in den Dickdarm gerechnet werden. Der Gallensäuren-Pool des Menschen beträgt ca. 10 mmol (siehe Kapitel 4.2.4). Es muss bei diesen Abschätzungen beachtet werden, dass GS besonders im Dünndarm aber auch im Dickdarm wieder rückresorbiert werden. Die Art der „Bindung“ zwischen GS und den Ballaststoffen aus Hafer ist nicht bekannt. Direkte Bindungen sind unwahrscheinlich wie Bowles *et al.* (1996) am Beispiel von β -Glucan zeigten. Bei Pektin wurde *in vitro* gefunden, dass die WW vorwiegend hydrophober Natur sind und dass sie von der Struktur sowohl der GS als auch der BS sowie von den physiko-chemischen Bedingungen im Medium abhängen (Dongowski, 1995, 1997). Ein weiterer Aspekt sind WW zwischen Steroiden und aktiven Stellen der mehr oder weniger intakten Zellwände des pflanzlichen Materials (Dongowski & Ehwald, 1999).

Für die Beurteilung der Fermentierbarkeit der Haferextrudate *in vitro* wurde die Bildung der SCFA aus den verdauten Extrudaten getestet. Die *In-vitro*-Fermentationsstudie stellte ein Model zur Simulierung der im Colon stattfindenden Fermentation dar. Unter anaeroben Bedingungen wird humane Faecesflora mit einem zuvor durch Pankreatinansatz verdauten Substrat inkubiert. Die typischen Metabolite der BS-Fermentation sind Acetat, Propionat und Butyrat. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass es während der *In-vitro*-Fermentation der Extrudate mit Faecesflora von gesunden Menschen zu einer erhöhten Bildung der physiologisch wichtigen SCFA kommt. Die Konzentration der SCFA erhöhte sich mit der Inkubationszeit bei ausreichendem Substratangebot. Unterschiedliche BS ergeben bei ihrer Fermentation unterschiedliche Anteile an SCFA (Cummings *et al.*, 1996, McBurney & Thompson, 1989, Weaver *et al.*, 1997). Wesentlich ist, dass es im Verlauf der Fermentation mit Haferextrudaten zu einer kontinuierlichen, mengenmäßigen und auch prozentualen Zunahme von Butyrat kam. Butyrat ist für die Funktionserhaltung der Dickdarmschleimhaut sowie für ihre kontinuierliche Regeneration von entscheidender Bedeutung (Jacobasch & Blaut, 1996).

Weaver *et al.* (1997) ermittelten molare Butyratanteile von 22 % bei der Fermentation von Maisstärke, 20-30 % bei Kartoffelstärke, 19 % bei Haferkleie und 18 % bei Weizenkleie. Bei der Fermentation der

Haferextrudate, die sowohl die höchsten Anteile an β -Glucan und RS als auch an Gesamt-BS enthielten, wurden ebenso signifikant mehr SCFA gebildet als aus dem Extrudat, das nur aus Hafermehl hergestellt wurde. Die Gründe für die Unterschiede sind darauf zurückzuführen, dass die verschiedenen Bakterien im Dickdarm unterschiedliche Substrate bevorzugen. Lebet *et al.* (1998) diskutierten, dass die chemische Struktur, die botanische Herkunft sowie die Menge an Polysacchariden die Fermentierbarkeit eines BS beeinflussen, während die Monosaccharidzusammensetzung sich dagegen auf das SCFA-Profil auswirkt. Vorrangig wird aber das Spektrum der Abbauprodukte durch die Zusammensetzung der intestinalen Mikroflora bestimmt.

Die hier erzielten *In-vitro*-Ergebnisse wurden im folgenden *in vivo* am Versuchstier und am Menschen überprüft.

4.3 *In vivo*-Untersuchungen und funktionelle Eigenschaften der Proben

4.3.1 Zusammensetzung der Versuchsmaterialien

Aus Gemischen von Vollkorn-Hafermehl, Haferkleie, Novelose 330[®] (weiter nur Novelose) wurden Extrudate bzw. nicht extrudierte Produkte hergestellt, die für die *In-vivo*-Untersuchungen zur Verfügung standen. In den Proben wurden β -Glucan, RS, lösliche und unlösliche BS ermittelt. Alle Proben enthielten β -Glucan, während RS in den Proben, die durch Novelose[®] 330 angereichert wurden und im autoklavierten Präparat vorkam. Die Proben enthielten sowohl lösliche als auch unlösliche Ballaststoffe (siehe Ergebnisse, Tab. 4.4-1). Der Gesamt-BS-Gehalt lag in den Extrudaten und Proben zwischen ca. 10 und 24 %.

4.3.2 Funktionelle Eigenschaften

Das extrudierte Hafermehl wies das höchste Wasserbindungsvermögen auf. Offensichtlich bewirkte der Zusatz von Novelose eine Minderung der Wasserbindung. Die unbehandelte Haferkleie und die extrudierten Proben hatten signifikant weniger Wasser gebunden. Aus dem Wasserbindungsvermögen resultieren Unterschiede in den funktionellen Eigenschaften der Diäten (Bourquin *et al.*, 1996).

Obwohl eine Vielzahl von Methoden zur Extraktion von β -Glucan beschrieben wurde, sind drei Grundverfahren herauszustellen: die Extraktion mit Wasser, Laugen und Säuren. Häufig ging bei den Extraktionen eine erhöhte β -Glucanausbeute mit einem kleineren Molekulargewicht oder einer geringeren Fließviskosität einher. Es zeigte sich allgemein, dass die Extraktionsbedingungen die Löslichkeit und das Molekulargewicht der β -Glucane und ihren extrahierbaren Anteil stark beeinflussen (Beer *et al.*, 1998). So wurden hohe Molekulargewichte in den ersten beiden Heiß-Wasser-Extrakten und bei einer Extraktion mit DMSO gefunden. Jedoch trat eine starke Depolymerisierung bei der anschließenden

Extraktion mit 5%iger NaOH auf. Andererseits gelang unter diesen Bedingungen eine fast vollständige Extraktion der β -Glucane (Beer *et al.*, 1997).

Die Löslichkeit der β -Glucane war im Hafer höher als in anderem Getreide (Wood *et al.*, 1991b). Bei alkalischer Extraktion wurden bis zu 20 % der β -Glucane gewonnen. Bhatti (1987) erhielt bei einer Säureextraktion etwa 33 % der β -Glucane in gelöster Form. Das unregelmäßige und verstärkte Auftreten von β -(1 \rightarrow 3)-Bindungen ist für die unterschiedliche Löslichkeit der β -Glucane bei 40 und 65 °C im Wasser verantwortlich (Woodward *et al.*, 1983). Einen Einfluss auf die Löslichkeit der β -Glucane können auch Bindungen mit Arabinoxylan (Ashluwalia *et al.*, 1984) oder Protein-Kohlenhydrat-Bindungen haben. Bei den untersuchten β -Glucanpräparaten zeigte sich insgesamt, dass der Extrakt aus der nicht-extrudierten Haferkleie K die höchste Viskosität aufwies, während der Extrakt aus der autoklavierten Probe M# niederviskos war.

Mit Ausnahme des β -Glucans aus der autoklavierten Probe besaßen alle β -Glucane ein hohes Molekulargewicht. Huth *et al.* (2000) fanden Molekulargewichte zwischen 80 000 und 125 000 Da in β -Glucane aus Gerstenextrudaten (Mark-Houwink-Gleichung), während Woodward *et al.* (1983) Molekulargewichte bis 290 kDa bestimmten. Demnach stimmen die in unseren Befunden an β -Glucan aus Hafer ermittelten Werte, 49 100-145 800 kDa (Mark-Houwink-Gleichung), gut mit den Daten in β -Glucan aus Gerste überein.

4.3.3 Rheologische Charakterisierung der β -Glucanpräparate aus den Haferprodukten

β -Glucan spielt wegen seiner Viskosität in wässrigen Systemen eine wichtige Rolle sowohl in den Lebenssystemen als auch im Intestinaltrakt. Zur Abschätzung derartiger Effekte wurde das rheologische Verhalten von β -Glucanpräparaten, die aus extrudiertem und autoklaviertem Hafermehl sowie aus Haferkleie extrahiert wurden, mittels Oszillations- und Scherversuchen untersucht. Die Messungen erfolgten bei Konzentrationen von 2 und 4 % β -Glucan. Diese Konzentrationen sind auch im Intestinaltrakt beim Verzehr von Hafer- oder Gerstenprodukten zu erwarten.

Es ist bekannt, dass besonders lösliche, makromolekulare BS wie Psyllium, Pektin oder β -Glucan in der Lage sind, die Viskosität im Nahrungsbrei zu erhöhen und das Fließverhalten zu verändern. Mit diesen Effekten werden verschiedene Wirkungen der BS in Beziehung gebracht. Hierzu gehören die Beeinflussung der postprandialen Plasmaglukose- und Insulinspiegel (Wood *et al.*, 1994a; Zunft *et al.*, 2004b), der höhere Transport von GS ins Colon und die höhere GS-Ausscheidung (Lia *et al.*, 1995) oder die Senkung des Serumcholesterols bei Hypercholesterinämie (McIntosh *et al.*, 1995; Braaten *et al.*, 1994).

Unter den von uns gewählten Extraktionsbedingungen konnten maximal 50 % der in den Haferprodukten anwesenden β -Glucane isoliert werden. Westerlund *et al.* (1993) extrahierten ähnliche Anteile an

β -Glucan aus Haferkleie und -endosperm. Beim Einsatz von intensiveren chemischen oder thermischen Verfahren kann zwar die Ausbeute an extrahiertem β -Glucan erhöht werden, allerdings ist dann mit einer stärkeren Depolymerisation der Makromoleküle zu rechnen. Derartige Bedingungen sind aber weit von den Bedingungen im Intestinaltrakt (z.B. pH-Wert, Temperatur) entfernt. Im Dünndarm sind praktisch auch nur die gelösten β -Glucane an der Ausbildung der Viskosität beteiligt. Weiterhin muss bedacht werden, dass β -Glucan erst im (Caecum und) Colon weitestgehend vollständig aus dem Zellwandmaterial der Getreideprodukte freigesetzt wird.

Es ist bisher sehr wenig über das rheologische Verhalten von β -Glucan im Dünndarm bekannt. Einige Autoren berichteten, dass eine partielle Depolymerisierung von β -Glucan während der Passage durch den oberen Gastrointestinaltrakt auftritt (Johansen *et al.*, 1997; Robertson *et al.*, 1997b). In anderen Studien wurde dieser Effekt nicht gefunden (Bach Knudsen *et al.*, 1993).

Bei β -glucanreichen Lösungen handelt es sich um nicht-Newton'sche Flüssigkeiten (Doublier & Wood, 1995). Derartige Systeme zeigen keine lineare Beziehung zwischen der Deformationsgeschwindigkeit und der Schubspannung. β -Glucanlösungen ergaben schon in einer Konzentration von 0,5 % (w/v) eine relativ hohe Viskosität und zeigten eine ausgeprägte Pseudoplastizität (Doublier & Wood, 1995; Dawkins & Nnanna; 1995). So waren Lösungen von β -Glucan, das aus gedämpften Haferkernen isoliert wurde, stärker pseudoplastisch und viskoelastisch ($G' > G''$) als β -Glucane aus rohem oder geröstetem Hafer (Zhang *et al.*, 1998). Das pseudoplastische und viskoelastische Verhalten von frisch hergestellten β -Glucanlösungen war typisch für das eines Polysaccharids vom „random coil“-Typ und hing vom Molekulargewicht und der Konzentration ab (Lazaridou *et al.*, 2003). Autio (1988) fand in Oszillationsversuchen, dass bei niedrigen Frequenzen das Speichermodul G' höher als das Verlustmodul G'' war, während bei höheren Frequenzen G'' größer war. Beide Moduli nahmen mit steigender Frequenz zu. Ein ähnliches Verhalten wurde auch bei allen isolierten β -Glucanen in der vorliegenden Arbeit beobachtet. Im Frequenzsweep erhöhten sich die Moduli G' und G'' der Proben aus dem extrudierten Hafermehl und aus der Haferkleie kontinuierlich mit steigender Frequenz und zeigten ein dominant viskoses Verhalten. Die elastischen Eigenschaften verstärkten sich mit steigender Frequenz. Im Amplitudensweep wurden demgegenüber G' und G'' nicht durch die Deformation beeinflusst. Die komplexe Viskosität nahm in allen Proben mit der Frequenz ab und war mit Ausnahme der β -Glucanprobe, die aus dem autoklavierten Material gewonnen wurde, von der Deformation abhängig.

Doublier & Wood (1995) ermittelten in rheologischen Messungen, dass sich in Lösungen von partiell hydrolysierten β -Glucanen auch ein gelartiges Verhalten mit einer Tendenz zur Aggregation und zur Ausbildung dreidimensionaler makromolekularer Netzwerke ausbilden kann. Böhm & Kulicke (1999a) berichteten, dass sich konzentrierte β -Glucanlösungen in zwei Zuständen befinden können: in einem molekular-disperses System mit normalem viskoelastischen Fließverhalten und in einem gelartigen Netzwerk. Bei Oszillationsversuchen stieg die Gelbildung mit abnehmendem Molekulargewicht und

zunehmender Konzentration der β -Glucane (Böhm & Kulicke, 1999b) an. Die eigenen Untersuchungen zeigten ebenfalls, dass es sich bei den β -Glucanproben aus Haferprodukten im untersuchten Konzentrationsbereich um klassische Viskositätsbildner handelt. Lediglich die Probe M#4 kommt als Gelbildner in Frage.

Bei Untersuchungen von β -glucanreichen Lösungen aus Hafer und Gerste folgte die Beziehung zwischen der Schubspannung und der Schergeschwindigkeit dem Potenz-Gesetz und konnte beispielsweise mit dem Herschel-Bulkley-Model beschrieben werden. So fanden Tejinder *et al.* (2000) bei den isolierten β -Glucanen einen Fließindex n zwischen 0,31 und 0,97. Dieses weist auf ein mittleres bis hohes pseudoplastisches Verhalten hin, wobei sich die Pseudoplastizität mit der Konzentration erhöhte. In den eigenen Untersuchungen an β -Glucanlösungen aus Hafer wurden ähnliche Werte gefunden. Im untersuchten Scherbereich konnten alle Proben mit Hilfe des Potenzansatzes von Ostwald und de Waele als strukturviskose nicht-Newtonsche Flüssigkeiten beschrieben werden. Die Probe M#4 stellte eine Besonderheit dar. Im Scherbereich konnte hier eine Fließgrenze sicher nachgewiesen werden. Der relativ geringe Strukturierungszustand kommt in der Rheostabilität der Proben zum Ausdruck, da die Thixotropiefläche relativ gering war. Bei gleicher Konzentration ergaben die aus der Haferkleie isolierten β -Glucane die höchsten scheinbaren und Prozessviskositäten.

Es wurde gezeigt, dass die Lösungen von β -Glucanen komplexe rheologische Eigenschaften besitzen, die von verschiedenen Faktoren wie ihrer Quelle (Hafermehl, Haferkleie), der technologischen Vorbehandlung (Extrusion, Autoklavieren, ohne Vorbehandlung) und der Konzentration während der Messung abhängen. Insgesamt wurden hohe Viskositätswerte bei den extrahierten β -Glucanen aus dem Haferextrudat und der unbehandelten Haferkleie gemessen. Das Autoklavieren des Hafermehls verursachte eine deutliche Depolymerisation der β -Glucanmakromoleküle. Diese zeigte sich in der geringeren Viskosität der isolierten β -Glucane und in einem veränderten rheologischen Verhalten an. Es war deshalb zu erwarten, dass sich die geringere Viskosität der β -Glucane im autoklavierten Hafermehl auf die Bindung von Steroiden im Intestinaltrakt und damit auch auf ihre erhöhte Ausscheidung auswirkt.

4.3.4 *In-vivo*-Testung der Haferproben im Rattenversuch

In einem Fütterungsversuch an konventionellen Wistar-Ratten wurden die physiologischen Wirkungen der Haferprodukte *in vivo* getestet. Als Beobachtungsparameter wurden die Gewichtsentwicklung, der Futterverzehr, der Serumlipidspiegel, die Konzentrationen der SCFA, GS und NS in Darminhalten und in den Faeces sowie die faecalen pH-Werte und die Zusammensetzung der Mikroflora in Caecuminhalten und in den Faeces herangezogen. Um die Auswirkungen der BS auf die Darmwand und Mucosa zu beurteilen, wurden histologische und immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt.

Das Wachstum aller Tiere verlief annähernd gleich. Es wurden keine Veränderungen in der Futteraufnahme in allen Gruppen beobachtet. Demgegenüber wurde bei einem Versuch mit Gerstenextrudaten eine Erhöhung der Futteraufnahme in der 5. und 6. Woche des Versuches festgestellt. Dabei korrelierten die Wachstumsraten mit dem Futterverzehr (Dongowski *et al.*, 2002).

In allen Versuchsgruppen wurden im Trend oder signifikant höhere Wassermengen aufgenommen. Sie sind vermutlich ein Resultat der höheren Wasserbindung der BS-reichen Versuchsfutterproben. Der Verzehr des mit Haferkleie angereicherten Produktes (Gruppe K) führte zur höchsten Wasseraufnahme durch die Tiere.

Die mit dem Futter zugeführten Hafer-BS zeigten nahezu keinen Einfluss auf den Serumlipidspiegel der Ratten. Minimale Effekte deuten sich beispielweise für Cholesterol und LDL-Cholesterol an, die unter der Haferballaststoffzufuhr abnahmen. Mälkki *et al.* (1993) fanden bei normalen Ratten ebenso keine signifikanten Änderung der Serumlipide nach Gabe von 1,5 bis 4,5 % β -Glucan (als Haferflocken) in der Diät, während bei hypercholesterinämischen Tieren bereits in Gegenwart von 1,5 % β -Glucan eine Abnahme des Gesamtcholesterols und eine Zunahme der HDL-Fraktion gemessen wurden.

Diese Befunde entsprachen den Erwartungen. Bei gesunden Tieren erfolgt über den negativen Feedbackmechanismus der GS auf die Cholesterolsynthese stets wieder ein Ausgleich auf das Normalniveau.

Da die Tiere in der eigenen Studie keinen erhöhten Serumlipidspiegel besaßen, waren die gemessenen Veränderungen relativ gering. Bei Anwendung von 10 % Gerstenmehl (4 % β -Glucan) oder 4 bzw. 10 % Gerstenkleie (6 % β -Glucan) in der Diät konnte Nagel-Held (1995) nach 6 Wochen an normocholesterinämischen Ratten ebenso keine signifikanten Änderungen im Serumcholesterospiegel nachweisen.

Newman *et al.* (1989) und Newman & Newman (1991) diskutierten, dass eine Abnahme des LDL-Serumcholesterols durch Gerstenprodukte in Beziehung zum Molekulargewicht der β -Glucane steht. Diese Einflussgrößen bedingen besonders eine höhere Viskosität im Dünndarm (Danielson *et al.*, 1997). Demgegenüber fand Frank *et al.* (2004) keinen Einfluss des Molekulargewichts auf die Konzentration der Lipide, Glukose oder das Insulin im Blut.

Ein wichtiger Aspekt der Wirkung von BS ist die Beeinflussung der gastrointestinalen Mikroflora (Erbersdobler, 1999). Nicht verdauliche, fermentierbare Nahrungsmittelbestandteile, die den Wirt durch selektive Stimulierung des Wachstums und/oder der Aktivität einzelner oder einer begrenzten Anzahl von Colon-Bakterien günstig beeinflussen und damit das Potenzial zur Verbesserung der Gesundheit des Wirtes nachweisen, werden deshalb als Präbiotika bezeichnet (Gibson & Roberfroid, 1995). Dies hat weiterreichende Konsequenzen für den Wirt. Ein verändertes Fermentationsverhalten, Beeinflussung des luminalen pH-Wertes und selektive Bildung von Stoffwechselprodukten sind die Folgen.

Die positiven Effekte werden hauptsächlich mit den bestimmten NDO in Verbindung gebracht (Blaut, 2002; Kolida *et al.*, 2002). In Versuchen an Ratten, die mit Galactooligosacchariden angereichertes Futter erhielten, erhöhte sich die Anzahl der Lactobacillen und Bifidobakterien (Djouzi & Andrieux, 1997; Le Blay *et al.*, 1999). Analoge Effekte übt RS Typ 3 aus. Kleessen *et al.* (1997) fanden nach RS-Fütterung an Ratten eine Stimulierung des Wachstums von Bifidobakterien. In der vorliegenden Arbeit wurden bei den Tieren, die BS-reichen Diäten erhielten, höhere Keimzahlen für *Bifidobacterium* sp. und im Trend auch für Lactobacillen gefunden (mit Ausnahme der Gruppen MN und M#). Demgegenüber haben Dongowski *et al.* (2002) bei Wistar-Ratten nach Gabe von BS-reichen Gerstenextrudaten signifikant höhere Keimzahlen von Lactobacillen nach 6 Wochen ermittelt.

Zu den positiven Effekten der BS gehört auch die Fähigkeit, das Wachstum apathogener Bakterien zu sichern und das von pathogenen zu unterdrücken (Wang & Gibson, 1993), das trifft vor allem auf *Bacteroides* und Bifidobakterien zu. Herauszustellen ist, dass in allen Versuchsgruppen die Zahl der coliformen Keime (mit Ausnahme der Gruppe MN) gegenüber der Kontrollgruppe signifikant abnahm.

Aus den Feuchtgewichten der Darminhalte war zu schließen, dass das Caecumgewicht in allen Versuchsgruppen (außer Gruppe M) signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht war. Dieser Effekt ist auf die höhere BS-Konzentration im Futter der Versuchsgruppen zurückzuführen, die das Wachstum der Bakterien stimulierten. Für diese Interpretation sprechen die hohen Fermentationsraten, die im Caecum festgestellt wurden. Mathers *et al.* (1993) haben bei Fütterungsversuchen bei 4 Monate alten Ratten eine signifikante Abnahme und bei 27 Monate alten Ratten eine signifikante Zunahme der Caecumgewichte nach Gabe einer Haferdiät (500 Hafermehl g/kg Diät) ermittelt. In den eigenen Versuchen hatte das proximale und das distale Colon in allen Gruppen bei der Gabe von BS-reichem Futter, mit Ausnahme der Gruppe M#, ein erhöhtes Gewicht gegenüber der Kontrolle. Ursachen für diesen Effekt sind nicht nur die höhere Wasserbindung durch Ballaststoffe, sondern auch die größere Bakterienmasse auf Grund des Angebotes fermentierbarer Substrate.

RS wurde nur in Caecuminhalten bestimmter Versuchsgruppen, jedoch nicht in der Kontrolle gefunden. In Coloninhalten war die RS nicht mehr nachweisbar. Dieses weist auf die weitgehend vollständige Fermentation der RS im Caecum hin.

Eine erhöhte Aufnahme an BS in Form von Hafer- oder Weizenkleie (Chen *et al.*, 1998), von RS (Young & Leu, 2004) oder anderen NDO (Loening-Baucke *et al.*, 2004, Zunft *et al.*, 2004a) hat eine erhöhte Stuhlfrequenz und ein höheres Stuhlgewicht zur Folge. In den meisten Versuchsgruppen, die BS-reiches Futter erhielten, wurde mehr TM in den 24-h-Faeces ausgeschieden als in den jeweiligen Kontrollen. Diese Ergebnisse belegen, dass bei Gabe BS-reicher Haferprodukte eine höhere Faecesmasse resultiert.

BS werden partiell oder vollständig fermentiert. Die Fermentierbarkeit wird von ihren strukturellen und physiko-chemischen Eigenschaften bestimmt (Bourquion *et al.*, 1996). RS, β -Glucan oder Pektin können

von 70 % bis zu 100 % fermentiert werden, während Cellulose partiell oder nicht fermentiert wird. Fermentationsprodukte sind Kohlendioxyd, Wasserstoff, Methan und die SCFA. Bei einer apathogen zusammengesetzten Mikroflora dominieren mit 85-95 % die SCFA als Fermentationsprodukte (Cummins *et al.*, 1987).

Es kam bei allen Tieren, die das BS-reiche Futter auf der Basis von Hafer erhielten, zu einer signifikanten Zunahme an Gesamt-SCFA in den Darminhalten. Acetat war immer die dominierende SCFA. Im Vergleich zur Kontrolle bewirkten die Haferprodukte einen signifikanten Anstieg der Konzentrationen an Propionat und an Butyrat.

Weil die Dickdarmschleimhaut auf eine kontinuierliche, luminale Butyratzufuhr angewiesen ist, ist ein ausreichend hoher luminaler Butyratspiegel anzustreben (Jacobasch *et al.*, 1997). Bei Absenkung des luminalen Butyratspiegels flachen die Krypten ab und atrophieren, die Regenerationsfähigkeit der Schleimhaut verringert sich (Rabassa & Rogers, 1992).

Es ist interessant, dass in den Caecuminhalten aller Gruppen mit BS-reicher Haferdiät signifikant oder im Trend höhere prozentuale Anteile an Butyrat als in den Faeces der 6. Woche auftraten. Auch die Anteile an Propionat waren in den meisten Gruppen im Trend in Caecuminhalten höher als in den Faeces. Dieses weist auf eine relativ hohe Resorptionsrate von SCFA im Caecum und Colon bei dieser Gruppe hin.

Insgesamt kann man sagen, dass die Haferkleie im Caecum stärker als Hafermehl fermentiert wird und der Zusatz von Novelose die Bildung von SCFA erhöht. Durch das Autoklavieren wird die partielle Depolymerisation der Stärke-Polysaccharide und die Bildung von RS 3 erhöht, was die bessere Fermentierbarkeit von Hafermehl zur Folge hat.

Es ist gut bekannt, dass der GS- und der Cholesterollowerstand eng miteinander verbunden sind. Eine Ursache für die Senkung von Serumcholesterol bei BS-reicher Diät ist offensichtlich die höhere Ausscheidung von Gallensäuren. Dieser Effekt wurde besonders bei Gabe von viskositätserhöhenden Ballaststoffen wie β -Glucan, Psyllium oder Pektin beobachtet (Judd & Truswell, 1981; Kirby *et al.*, 1981; Anderson *et al.*, 1993; Fernandez *et al.*, 1994, 1995; Huth *et al.*, 2000; Seal & Mathers, 2001; Romero *et al.*, 2002).

Die nicht erhitzte Haferkleie (15 – 30 %) oder gebackene Haferkleie (30 %) in der Diät verursachten bei Ratten nach 28 Tagen eine Abnahme der Cholesterolkonzentration im Plasma sowie eine erhöhte GS-Exkretion (De Schrijver *et al.*, 1992).

In den eigenen Versuchen traten die höchsten GS-Konzentrationen im Caecum der Gruppen auf, deren Futter bis zu 50 % Haferkleie enthielt. Demgegenüber war bei Gabe des autoklavierten Produktes die GS-Konzentration mit 9,18 $\mu\text{mol/g}$ TM sogar kleiner als in der Kontrolle. Eine Ursache für diesen Effekt dürfte in der starken Depolymerisierung der Ballaststoffe in diesem Produkt liegen. Somit scheint

klar, dass es einen Zusammenhang zwischen der Viskosität des Nahrungsbreis im Dünndarm und der Menge an GS gibt, die ins Caecum transportiert werden.

In Caecuminhalten trat ein großes Spektrum an individuellen GS auf. Die Unterschiede in der Zusammensetzung der GS, die gegenüber der Kontrolle gefunden wurden, deuten auf eine Beeinflussung des auftretenden GS-Spektrums und der GS-Menge durch die BS-Zusammensetzung der Haferdiäten hin.

Die GS treten im Dünndarm vor allem in konjugierter Form auf. Hierbei ist zu beachten, dass bei der Ratte, anders wie als Mensch, die GS vorwiegend mit Taurin über Säureamidbindungen konjugiert sind. Von den Gesamt-GS lagen 16 bis 18 % als Taurinkonjugate im Caecum bei den Versuchsgruppen und 23 % bei der Kontrolle vor. Dieses Ergebnis weist auf eine stärkere Dekonjugierung der GS in Gegenwart BS-reicher Diäten hin. Glycokonjugierte GS konnten nicht gefunden werden, obwohl in der Literatur auch die Anwesenheit dieser GS-Gruppe bei Ratten beschrieben wurde (Ide *et al.*, 1989).

Die "primären" GS werden durch Enzyme der intestinalen Mikroflora am C-7 des Steroidgerüsts zu "sekundären" GS dehydroxyliert. Diese Reaktion wird durch die 7α -Dehydroxylase katalysiert (Baron & Hylemon, 2000). Den sekundären GS werden cytotoxische Eigenschaften zugeschrieben (Hofstad *et al.*, 1998; Hofmann, 1999). Insgesamt entstehen im Dickdarm - und bei der Ratte besonders auch im Caecum - als Resultat der mikrobiellen Umsetzung eine Reihe weiterer GS. Diese werden sowohl ausgeschieden, als auch resorbiert und/oder in den Hepatozyten in ihre ursprünglichen GS zurückgewandelt.

In den Caecuminhalten der Versuchsgruppen traten signifikant mehr primäre GS als in der Kontrollgruppe auf ($P < 0,001$). Die Ursache für die höheren Anteile an primären GS in den Versuchsgruppen ist die partielle Hemmung der bakteriellen 7α -Dehydroxylase durch die pH-Absenkung infolge der Bildung von SCFA. Die pH-Werte in Caecuminhalten und Inhalten des Colons waren in allen Gruppen, die eine BS-reiche Diät erhielten, signifikant kleiner als in der Kontrollgruppe (siehe Ergebnisse, Abb. 4.4-6). Die tiefsten pH-Werte wurden im Caecum in den Gruppen K und im Colon bei KN gemessen.

Im Vergleich zur Kontrolle wurden in allen Versuchsgruppen höhere Konzentrationen an primären GS in Coloninhalten ermittelt. Die Konzentrationen an sekundären GS waren mit Ausnahme der Gruppe K kleiner als in der Kontrolle. Eine Ursache für diesen Effekt ist die höhere Gesamt-GS-Konzentration in der Versuchsgruppe K. Weniger als 5 % der GS waren in den Coloninhalten konjugiert, wobei der höchste Anteil in der Kontrolle gefunden wurde. Es zeigte sich in allen Versuchsgruppen ein niedrigerer prozentualer Anteil an sekundären GS in den Coloninhalten als Folge der fortschreitenden BS-Fermentation.

In allen Gruppen wurden signifikant höhere Konzentrationen an GS (bis zu $15,93 \mu\text{mol/g TM}$) in den Faeces nach 6 Wochen ermittelt. Im Vergleich zur Kontrollgruppe S wurde ab der 4. Woche in allen

Versuchsgruppen signifikant mehr Gesamt-GS ausgeschieden. Die höchste tägliche GS-Ausscheidung in den Faeces trat in den Gruppen K und KN auf. Der Zusatz des autoklavierten Hafermehls zum Futter hatte eine vergleichsweise geringe Wirkung. Ein partieller Austausch der Haferprodukte durch Novelose verbesserte die Exkretion der GS nicht.

Insgesamt stieg in allen Gruppen die Menge an Gesamt-GS pro Gramm TM vom Caecum bis zu den Faeces kontinuierlich an. Taurokonjugierte GS wurden in keiner Faecesprobe gefunden.

Der Zusatz von Novelose zu den Diäten MN und KN führte zu den geringsten prozentualen Anteilen an sekundären GS in den Faeces. Der relative Anteil der gebildeten sekundären GS hängt stark von der Fermentation der Ballaststoffe im Intestinaltrakt und der Bildung der SCFA ab. Eine besondere Rolle scheint hierbei die RS im Futter zu spielen.

Die zweite Steroidgruppe sind die neutralen Sterole. Das wichtigste NS ist Cholesterol und dessen Metaboliten: Coprostanol, Cholestanon und Coprostanon. Ausgeschiedenes Cholesterol kann nicht zur Erhöhung des Serum-Cholesterolspiegels beitragen.

In Caecuminhalten wurde ähnlich wie bei den GS in der Gruppe K (Haferkleie) die höchste und in der Gruppe M# (autoklaviertes Hafermehl) die kleinste Menge an Gesamt-NS ermittelt. Mit Ausnahme der Gruppe M# waren die Konzentrationen in den Versuchsgruppen signifikant erhöht. Das dominierende NS war Cholesterol. Es wurden in allen Gruppen 25 % Coprostanol und etwa 1 % Coprostanon gefunden. In beiden Versuchsgruppen, die Haferkleie-haltige Diäten erhielten, traten die höchsten NS-Gehalte in den Coloninhalten auf. Das dominierende NS in den Coloninhalten war mit über 55 % Coprostanol. Der Anteil von Coprostanon lag zwischen 2,2 % (Kontrolle) und 3,9 % (Gruppe K). In den Faeces der Kontrollgruppe waren die Menge und die Zusammensetzung der NS während des Experiments unverändert. Es zeigte sich, dass in allen Gruppen, die BS-reichen Diäten erhielten, in der 4. und 6. Woche signifikant mehr NS pro Tag ausgeschieden wurde als in der Kontrolle.

In einer Studie an jungen männlichen Ratten mit BS-reichen Extrudaten aus Gerste (7-12 % β -Glucan und 7-24 % RS) wurden ähnliche Resultate gefunden (Dongowski *et al.*, 2002, 2003). Im Dünndarm dominierten hier ebenfalls taurokonjugierte und primäre GS, während nur Cholesterol als NS erschien.

Eine weitere Gruppe von NS sind die Phytosterole. Diese Sterole können als „Gegenspieler“ des Cholesterols ebenfalls zur Senkung der Plasmalipide beitragen und den Cholesterolstoffwechsel beeinflussen (Moghadasian, 2000; Kerckhoffs *et al.*, 2002; Moreau *et al.*, 2002; Trautwein *et al.*, 2002). Aufgrund geringer Konzentration im Hafer (Piironen *et al.*, 2002), wurden die Phytosterole in dieser Studie nicht untersucht.

Die Summe aus Gesamt-GS und Gesamt-NS wird als Gesamtsteroid bezeichnet. Die durchgeführten Untersuchungen belegen, dass in Gegenwart ballaststoffreicher Extrudate auf der Basis von Hafermehl und/oder Haferkleie eine Erhöhung der Ausscheidung der Gesamtsteroid erreicht ist. Die Anteile an

ausgeschiedenen Gesamtsteroiden erhöhten sich in der Kontrollgruppe S um ca. 0,5 % und in den Versuchsgruppen um 16,9 bis 39,9 % ($P < 0,001$), in der Gruppe M# um etwa 4 %. Die Konzentration, Zusammensetzung und Fermentierbarkeit der BS, einschließlich der resistenten Stärke, haben einen wesentlichen Einfluss auf die Komposition und Menge der Steroide in Darminhalten und in den Faeces.

Histologische Untersuchungen

Die Aufrechterhaltung der Gewebshomeostase wird durch ein geordnetes Zusammenspiel von Mitose und Apoptose bedingt. Damit wird die Funktionalität einzelner Gewebe einschließlich des Verdauungstraktes gesichert. Eine Verschiebung dieses Gleichgewichtes kann entweder zu einem Zuwachs des Gewebes oder zur Degeneration bzw. Abnahme führen. Diese Regulationsprozesse des "Zell-Turnovers" sind durch genetische Disposition aber auch durch nutritive Faktoren gesteuert. Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang die SCFA. So können verminderte Gehalte an SCFA (besonders von Butyrat) zu degenerativen Erscheinungen an der Darmmucosa führen (Sakata, 1987; Kripke *et al.*, 1989).

Um die Auswirkung unterschiedlicher Diäten auf die Darmwand zu ermitteln, wurde deren Morphologie mikroskopisch untersucht. Dabei wurden bei den mit haferreichen Diäten gefütterten Tieren in den meisten Gruppen (Ausnahme: Gruppe M#) stärkere Darmwände im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt. Bezüglich der Zunahme der Darmwanddicke kann angenommen werden, dass die gemessenen Effekte auf eine erhöhte Bildung von SCFA und auf eine erhöhte Motilität (Peristaltik) des Darmes unter BS-reicher Diät zurückzuführen sind. Acetat, Propionat und Butyrat haben einen durchblutungs- und motilitätssteigernden Effekt auf das Colon (Topping & Clifton, 2001) und wirken damit auf die Muskulatur des Darmes.

Die Schleimhaut (Tunica mucosa) dient dem Schutz vor mechanischen und chemischen Noxen, und sie ist ein wichtiger Bestandteil des unspezifischen und spezifischen Abwehrsystems (Neutra & Forstner, 1987). Wie in Versuchen an Ratten gezeigt wurde, wurden die Menge und die Zusammensetzung der Mucine durch den Stoffwechsel der mikrobiellen Flora beeinflusst (Sharma & Schumacher, 1995). Bei den meisten Gruppen, die eine BS-reiche Haferdiät erhielten, wurde eine signifikant erhöhte Gesamtanzahl an Becherzellen ermittelt. Eine Ausnahme bildeten die Gruppen MN und M#, in denen keine signifikanten Veränderungen in der Anzahl der Becherzellen festgestellt wurde. Auffällig war in diesem Zusammenhang die niedrige Konzentration an Butyrat in den Caecum- und Faecesinhalten beider Gruppen. Gaudier *et al.* (2004) teilte mit, dass Butyrat die MUC-Gene beeinflusst und dadurch die Eigenschaften und die Zusammensetzung der Mucine verändert.

Es wurden diätabhängige Veränderungen in der qualitativen Zusammensetzung der Mucine beobachtet. In den mit Haferprodukten gefütterten Tieren wurden im proximalen Colon weniger Becherzellen mit neutralen Mucinen gefunden als in der Kontrollgruppe. Neutrale Mucine sind als weniger ausgereift anzusehen als saure Mucine, da die Übertragung von sauren Sulfat- und Sialylgruppen erst in den

letzten Syntheseschritten im Golgi-Apparat erfolgt (Neutra & Forstner, 1987). Das verringerte Vorkommen von Becherzellen mit neutralen Mucinen könnte als Indiz für eine stärkere "Ausreifung" der intestinalen Schleimhaut unter dem Einfluss von Haferprodukten gewertet werden. Im distalen Colon wurde bei den mit Haferdiäten behandelten Tieren eine erhöhte Anzahl von Becherzellen mit sauren Mucinen in den meisten Gruppen gegenüber der Kontrolle ermittelt. Dieser Befund lässt sich als Merkmal einer weit ausdifferenzierten Mucosa bewerten. Insgesamt zeigt sich, dass sich die Anzahl der neutralen Mucine verringerte und die der sauren sich vom proximalen zum distalen Colon erhöhte. Sakata & von Engelhardt (1981) fanden bei Versuchen an Mäusen, Ratten und Meerschweinchen, dass im Verlauf der Darmpassage vom Caecum bis zum distalen Colon die neutralen Mucine im Schleimhautepithel abnehmen und die der sauren ansteigen.

Da Butyrat die Hauptenergiequelle für Colonocyten darstellt (Roediger, 1980), ist eine mitosefördernde Wirkung von Butyrat zu erwarten. In zahlreichen Studien wurde Butyrat eine mitogene Wirkung zugesprochen (Scheppach *et al.*, 1992b; Sakata, 1987). Es wurde in den Versuchen mit BS-reichen Haferdiäten (Ausnahme: Gruppe M#) in beiden Colonabschnitten eine Erhöhung der Mitoserate beobachtet. Diese Ergebnisse stimmen mit anderen Untersuchungen über die Wirkung von SCFA (von Butyrat) auf die Proliferation im Verdauungstrakt überein (Goodlad *et al.*, 1987; Johnson *et al.*, 1988; Sakata, 1987). Andererseits wurde in einer Studie an Ratten ermittelt, dass die Gabe von Hafermehl (500 g/kg Futter) in einer erhöhten Mitoserate im Caecum und einer verminderten Proliferation im Colon resultierte (Mathers *et al.*, 1993). Edwards *et al.* (1992) stellten in einem Versuch an Wistar-Ratten fest, dass sich nach Gabe einer BS-Diät die Proliferationsrate im proximalen jedoch nicht im distalen Colon signifikant erhöhte.

In der vorliegenden Arbeit konnte in den Gruppen mit BS-reichen Haferdiäten (Ausnahme: Gruppe M#) der Epithelzuwachs auf eine allgemeine Verminderung der Apoptose bei erhöhter Mitoserate zurückgeführt werden. Bei den mit Haferprodukten gefütterten Tieren lag die Anzahl apoptotischer Zellen pro Krypte deutlich unter der Anzahl in der Kontrollgruppe. Die Tiere, die das Futter mit autoklaviertem Hafermehl erhielten, bildeten eine Ausnahme. Im proximalen Colon blieb das Verhältnis Mitosen/Apoptosen in Gruppe M# bei 1:1, was sich auch auf die, gegenüber der Kontrolle, unveränderte Darmwandschicht auswirkte. In den übrigen Versuchsgruppen wies die Gruppe K die größten Veränderungen im "Zell-Turnover" (Mitose > Apoptose) auf, woraus eine stärkere Darmwandschichte resultierte. In ähnlicher Weise zeigten Hague *et al.* (1997) eine Reduktion der Apoptose durch Butyrat in normalen Zellen *in vivo*.

In zahlreichen Studien wurden die Effekte von SCFA auf die Zellteilung, die Differenzierung und die Apoptose untersucht. Dabei ist zu beachten, dass sich die Wirkung von Butyrat bei Tumorzellen von der auf gesunde Epithelzellen unterscheidet. Während sich die Apoptose *in vitro* in normalen Zellen durch Butyrat vermindert, wird sie bei neoplastischen Zellen erhöht. Die Widersprüche sind so eklatant, dass sie in der Literatur mitunter als "Butyrat-Paradox" bezeichnet werden (Lupton, 2004).

Es ist zwar nicht möglich eine genaue Aussage dazu machen, wie sich die Produkte der Fermentation im humane Colon bezüglich der Proliferation und der Apoptose verhalten werden (Fleming *et al.*, 1992), man kann aber davon ausgehen, dass die Menge und die Zusammensetzung der BS in der Diät eine entscheidende Wirkung auf den mucosalen "Zell-Turnover" im Colon ausüben. Dabei sind bis jetzt weder der Mechanismus noch die daraus resultierenden gesundheitlichen Konsequenzen vollständig untersucht.

4.3.5 *In-vivo*-Testung des RS-reichen Haferpräparates im Humanversuch

In einem Humanversuch wurde das Haferextrudat MN (Hafermehl + Novelose) auf seine physiologischen Wirkungen *in vivo* getestet. In dieser Pilotstudie wurden die Serumlipide, die SCFA, die GS- und NS-Konzentration, sowie die pH-Werte in den Faeces und die Mikroflora als Untersuchungsparameter ermittelt.

Die normalen gastrointestinalen Transitzeiten sind von verschiedenen Faktoren abhängig. Je nach Speiseart beträgt die Aufenthaltszeit im Magen 1-2 h, im Dünndarm 2-4 h und im Colon 30-70 h bei einer üblichen täglichen BS-Aufnahme (Schmidt *et al.*, 2000). Lupton *et al.* (1993) zeigten nach 14-tägiger Gabe von 30 g Gerstenkleie eine Verringerung von 47 auf 39 Stunden. Bei den Probanden in der eigenen Studie, erhöhte sich nach der Gabe des BS-reichen Haferextrudates ebenso die Stuhlfrequenz. So hatten während der Applikationsphase 10 von 12 Probanden eine erhöhte Stuhlfrequenz und 9 Probanden eine weichere Stuhlkonsistenz.

Ein erhöhter Cholesterolverwert ist ein Risikofaktor für koronare Herzerkrankungen (Beer, 1994). Shinnick *et al.* (1981) bewerteten in einer Meta-Analyse von 21 Studien den Effekt der Serum-Cholesterolsenkung durch Haferprodukte, wie Kleie oder Mehl, am Menschen. Mit nur einer Ausnahme wurde eine Abnahme des Cholesterolspiegels um 2,4 bis 29 % ermittelt. Die cholesterinsenkende Wirkung von β -Glucan aus Hafer wurde bei Patienten mit Hypercholesterinämie (Maki *et al.*, 2003a; Gerhardt & Gallo, 1998; Berg *et al.*, 2003; Kerckhoffs *et al.*, 2003) sicher belegt.

Veränderungen der Blutcholesterolspiegel sind nur bei einem erhöhten Cholesterolspiegel zu erwarten. Ein hypocholesterinämischer Effekt konnte in dieser Studie bei drei Probanden mit erhöhtem Plasma-cholesterolspiegel ermittelt werden. Anderson *et al.* (1984) teilten ähnliche Befunde an normal- und hypercholesterinämischen Probanden nach Gabe von Haferkleie oder deren Konzentraten, die reich an β -Glucan waren, mit.

Die Faecesflora veränderte sich während der Haferproduktzufuhr nicht wesentlich. Im Trend wurden jedoch erhöhte Werte für Lactobacillen und Bifidobakterien aber auch für *Bacteroides* gefunden. Bekannt ist eine selektive Förderung der Populationen der *Lactobacillus*- und Bifidogruppe durch Oli-

gofructose und Inulin, die als präbiotische Nahrungsergänzungsmittel verwendet werden (Salminen *et al.*, 1998, Cummings *et al.*, 2001).

Im Trend nahmen die Konzentrationen an Acetat, Propionat sowie Butyrat und auch die Gesamt-SCFA bei den Probanden während der Gabe des Haferextrudats von der 0. zur 4. Woche hin zu. Es zeigte sich, dass der Anteil an Acetat im Verlauf der Intervention abfiel, während der Butyratanteil zunahm.

Die Gesamtmenge an SCFA in den Faeces pro Gramm Feuchtgewicht erhöhte sich von 69 μmol in der 0. Woche auf 90 μmol in der 4. Woche und fiel dann wieder auf ca. 60 μmol in der 6. Woche (14 Tage nach Beendigung der Interventionsstudie, so genannte "Follow-up-Phase"). Dieser Befund weist darauf hin, dass für einen gesundheitsfördernden Effekt eine kontinuierliche BS-Zufuhr erforderlich ist.

Während der pH-Wert in den Faeces der Probanden innerhalb der 4-wöchigen Interventionsphase um 0,67 pH Einheiten auf 6,71 abfiel, stieg er in der "Follow-up-Phase" erwartungsgemäß wieder an.

Bei einer gemischten Nahrung ist beim Menschen im Stuhl mit einem molaren Verhältnis Acetat : Propionat : Butyrat von etwa 60 : 20 : 15 zu rechnen (Topping & Clifton, 2001; Salminen *et al.*, 1998). Diese sind mit den eigenen Ergebnissen vergleichbar. In der Interventionsphase verminderte sich bei den Probanden der molare Anteil an Acetat während sich der prozentuale Butyratanteil erhöhte. Es ist interessant, dass die in der Interventionsphase bei den molaren Anteilen auftretenden Veränderungen zwei Wochen später, d. h. in der "Follow-up-Phase", im Vergleich zu den Ausgangswerten leicht erhöht blieben. Dieser Befund kann als Zeichen eines länger anhaltenden stimulierenden Effektes auf die Mikroflora gewertet werden.

Ein Zusammenhang zwischen der Serumcholesterol-senkenden Wirkung und der Exkretion von GS ist bekannt. So wurde bei Ileostomie-Patienten in Gegenwart von 16,3 g Haferkleie eine höhere Ausscheidung von GS und Fett sowie eine verminderte Ausscheidung von Gesamtcholesterol und von endogenem Cholesterol ermittelt (Lia *et al.*, 1997). In einer weiteren Studie an Ileostomie-Probanden fanden Lia *et al.* (1995), dass Haferkleie besonders die GS-Exkretion und eine Gerstenfraktion die Cholesterolexkretion erhöhten.

Im Verlauf der Pilotstudie beim Verzehr des BS-reichen Haferextrudats ergab sich (als Durchschnittswerte der prozentualen Anteile der GS in den Faeces aller Probanden) eine signifikante Zunahme der primären und eine Abnahme der sekundären GS. Zwei Wochen nach Beendigung der Hafergabe war die GS-Ausscheidung wieder fast auf dem Ausgangsniveau. Die Veränderungen in der GS-Ausscheidung zeigten bei allen Probanden die gleiche Tendenz. Die Konzentrationen der primären Gallensäuren C und CDC nahmen zu. Allgemein wiesen alle Probanden mehr sekundäre als primäre GS in den Faeces auf. Diese Befunde weisen darauf hin, dass das untersuchte Haferextrudat bezüglich einer erhöhten Ausscheidung von Gallensäuren bei gleichzeitiger Zunahme des Anteils an primären

GS wirksam war. Weiterhin wurde gefunden, dass die BS-Haferextrudate ähnliche Effekte auf die Ausscheidung von NS ausüben. Im Versuchsverlauf erhöhte sich die Gesamtkonzentration an NS in den Faeces. In der "Follow-up-Phase", d. h. nach dem Ende der Haferextrudatgabe, verminderte sich die ausgeschiedene Menge an Gesamt-NS wieder.

Berücksichtigt werden müssen auch individuelle Unterschiede zwischen den Probanden hinsichtlich ihrer Ernährungsweise, des individuellen Lipidmetabolismus, sowie mikrobieller Besiedlung des Darmes und daraus resultierenden Stoffwechseleffekten. So lagen grosse Unterschiede in der Konzentration an ausgeschiedenen Gesamt-Steroiden zwischen den 12 Probanden bereits in der 0. Woche vor. Beispielsweise lagen die Konzentrationen an NS in der 0. Woche beim Probanden 7 fast doppelt so hoch wie beim Proband 2. In der vorliegenden Arbeit wurden daher die auftretenden Effekte bei den untersuchten Parametern auch für die einzelnen Probanden sowie für Gruppendurchschnittswerte, beurteilt. Insgesamt ist festzustellen, dass sich von der 0. bis zur 4. Woche der prozentuale Anteil an Cholesterol signifikant verminderte, während sich der Anteil der Cholesterol-Metaboliten erhöhte.

Wie im Tierversuch wurde auch in der Pilotstudie am Menschen gefunden, dass bei Gabe des BS-reichen Haferextrudats eine erhöhte Ausscheidung von Steroiden auftritt. Dieser Effekt war 2 Wochen nach Beendigung der Intervention nicht mehr nachweisbar.

Insgesamt zeigten Extrudate aus Hafer, die unter optimierten Bedingungen hergestellt wurden, eine Reihe von ernährungsphysiologisch vorteilhaften Wirkungen. Die Extrudate waren in der Lage, Wechselwirkungen mit Gallensäuren einzugehen und diese in die unteren Darmabschnitte (Colon) zu transportieren. Dieser Effekt führte zu einer erhöhten Ausscheidung von Steroiden. β -Glucane und RS dienen der intestinalen Mikroflora als Substrat zur Energiegewinnung und als Kohlenstoffquelle. Eine hohe Fermentationsrate geht mit einer erhöhten Bildung von Säuren einher, so dass der pH-Wert abfällt. Dadurch verringert sich die Rate der Bildung sekundärer GS, die onkogen wirken können.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden mit resistenter Stärke angereicherte Haferprodukte hinsichtlich ihrer physiologisch wirksamen Inhaltsstoffe analysiert und ernährungsphysiologisch *in vitro* und *in vivo* charakterisiert.

Für die Untersuchungen standen ballaststoffreiche Haferprodukte zur Verfügung, die im Institut für Lebensmittel- und Umweltforschung in Nuthetal aus Hafermehl, Haferkleie und Novelose 330® hergestellt wurden.

Der erste Teil der Arbeit beschäftigte sich mit der Analyse der Haferprodukte. Diese wiesen eine hohe Wasserbindungskapazität auf. Bei den Untersuchungen am Tiermodell wurde gezeigt, dass im Dünndarm eine größere Menge an Wasser durch die Haferprodukte gebunden wurde, was zu einem höheren Feuchtigkeitsanteil der gastrointestinalen Inhalte der Tiere führte, die ballaststoffreiches Futter erhielten. Die *In-vitro*-Verdauung von Maisstärke durch Pankreatin, wurde durch die ballaststoffreichen Haferprodukte partiell gehemmt. Dieser Befund lässt eine Abschwächung des postprandialen Glukoseanstieges erwarten.

Trotz der hydrothermischen Behandlung während der Extrusion wurden Produkte gewonnen, deren β -Glucane im hochmolekularen Zustand erhalten blieben und somit eine hohe Viskosität in wässrigen Lösungen beibehielten. In rheologischen Untersuchungen wurde bestätigt, dass die aus Haferprodukten isolierten β -Glucane ein pseudoplastisches Fließverhalten besitzen. Demgegenüber führte ein Autoklavieren der Produkte zu einer starken Depolymerisation der β -Glucane, was sich in einer Änderung der funktionellen Eigenschaften der β -Glucane widerspiegelte.

Unter den Bedingungen des Dünndarmmilieus wurden *in vitro* Wechselwirkungen zwischen konjugierten Gallensäuren und den Haferprodukten gefunden. Es wurde sowohl eine Abhängigkeit der Wechselwirkungen vom pH-Wert als auch von der Struktur der Steroide und von der Ballaststoffzusammensetzung der Produkte festgestellt. Die Bindung der Gallensäuren erhöhte sich mit zunehmendem Anteil an Haferkleie im Extrudat und mit zunehmendem Anteil an Gesamt- und unlöslichen Ballaststoffen sowie an β -Glucan. Aus diesen *In-vitro*-Ergebnissen ist auf eine verminderte Rückresorption von Gallensäuren im terminalen Ileum zu schließen, wodurch vermehrt Gallensäuren in den Dickdarm gelangen und mit den Faeces ausgeschieden werden. Es wurde weiterhin gezeigt, dass die *In-vitro*-Fermentation von zuvor verdauten Haferprodukten durch die Faecesflora des Menschen zu einer hohen Bildungsrate der physiologisch wichtigen SCFA mit einem hohen Anteil an Butyrat führt.

Die erzielten Ergebnisse der *In-vitro*-Untersuchungen wurden im Tiermodell und in einer Pilotstudie am Menschen überprüft. In einem sechswöchigen Fütterungsversuch erhielten konventionelle Wistar-Ratten eine Diät, die im Vergleich zu einer Standarddiät mit 50 % der Haferprodukte substituiert war. Die Haferprodukte wurden von den Tieren gut vertragen. Alle Tiere zeigten eine normale Gewichtsentwicklung. Die Haferprodukte (besonders Haferkleie) bewirkten eine stärkere Wasserbindung im

Speisebrei, woraus eine erhöhte Wasseraufnahme durch die Tiere resultierte. Die Spiegel des Gesamt- und LDL-Cholesterols im Serum sanken in allen Versuchsgruppen, die ein ballaststoffreiches Futter erhielten. Der Verzehr der ballaststoffreichen Haferprodukte bewirkte eine Abnahme der coliformen Bakterien und die Zunahme der Bifidobakterien. Weiterhin vergrößerte sich der Darminhalt signifikant. Als Resultat der Ballaststoffzufuhr wurden in histologischen Untersuchungen dickere Darmwände gemessen. Desweiteren wurden eine erhöhte Proliferationsrate in den Epithelzellen der Mucosa und eine veränderte Zusammensetzung der Mucine beobachtet.

Die beschriebenen physiologischen Wirkungen der Haferprodukte wurden durch die Ballaststoffzusammensetzung (β -Glucan, resistente Stärke, lösliche und unlösliche Ballaststoffe), die Haferquelle (Mehl, Kleie) und die technologische Vorbehandlung (Extrusion, Autoklavieren) hervorgerufen. Die Gabe von Haferkleie förderte besonders effektiv die Bildung von SCFA mit einem hohen Butyratanteil. Die vermehrte Bildung der SCFA ging mit einem pH-Abfall im Caecum und Colon einher. Mit der pH-Senkung verringerte sich die Bildung von sekundären Gallensäuren. Außerdem erhöhten Haferprodukte die Ausscheidung von Gallensäuren und neutralen Sterolen.

Die Ergebnisse der Fütterungsstudie an Ratten wurden prinzipiell in der Pilotstudie am Menschen bestätigt. Die relativ großen individuellen Unterschiede in den Ausgangswerten der gemessenen physiologischen Parameter der Probanden erschwerten die Bewertung. So wurden häufig keine signifikanten Veränderungen in den gemessenen oder berechneten Parametern bis zur 4. Woche für die Gesamtgruppe ermittelt, obwohl die individuellen Werte im Verlauf des Versuchs einen eindeutigen Trend ergaben.

Das mit resistenter Stärke angereicherte Haferextrudat, das die Probanden zusätzlich zu ihrer habituellen Diät erhielten, wurde gut akzeptiert. Die ballaststoffreiche Nahrung bewirkte eine Zunahme der Trockenmasse der Faeces und höhere Keimzahlen für Laktobazillen, Bifidobakterien und *Bacteroides*. In den Faeces wurden tiefere pH-Werte und eine Zunahme der einzelnen und der Gesamt-SCFA sowie eine Zunahme des Butyratanteils gemessen. Probanden, die zu Beginn der Studie einen erhöhten Cholesterolspiegel aufwiesen, erreichten nach vierwöchiger Einnahme des Haferproduktes den Normalbereich. Weiterhin wurde eine erhöhte Ausscheidung an Gallensäuren bei gleichzeitiger Zunahme des Anteils an primären Gallensäuren sowie des Anteils an Cholesterol-Metaboliten nachgewiesen. Diese Parameter kehrten zwei Wochen nach Beendigung der Intervention, in der "Follow-up-Phase" nach Absetzen der Haferextrudatgabe, wieder auf das Ausgangsniveau (0. Woche) zurück.

Die untersuchten Haferprodukte erwiesen sich als gut fermentierbare Substrate für die intestinale Mikroflora und können deshalb als ein Präbiotikum mit Ballaststoffcharakter eingeschätzt werden. Diese Produkte, die mit einem erhöhten Anteil an resistenter Stärke und wertvollen Haferballaststoffen hergestellt wurden, können dazu beitragen, die Ballaststofflücke in unserer Ernährung zu schließen und positive ernährungsphysiologische Effekte zu bewirken.

6 Ausblick

Die aus den Ergebnissen gewonnenen Erkenntnisse zeigen neue Möglichkeiten der Anwendung von ballaststoffreichen Haferprodukten in der Lebensmittelindustrie, speziell auf dem Gebiet von “Functional Food“, auf.

Aufgrund des hohen Fettgehaltes gelang bei Haferprodukten die Generierung von resistenter Stärke bei der Extrusion nicht. Die Forschung hat sich aber bereits der Züchtung fettarmer Hafersorten zugewandt. Deswegen erscheint eine interdisziplinäre Kooperation mit diesem agrarwissenschaftlichen Bereich wünschenswert. Es ist zu erwarten, dass sich mit dem Einsatz fettarmer Hafersorten nicht nur funktionelle Lebensmittel auf der Basis von Hafer mit einem hohen RS3-Anteil gewinnen lassen, sondern auch die energetische Belastung durch die bisher vorliegenden Haferprodukte wesentlich senken lässt.

Die Ergebnisse der Humanstudie zeigten, dass ballaststoffreiche Haferprodukte butyrogen wirken. Die genauen Kenntnisse, welcher Butyratspiegel nötig ist, um eine präventive Wirkung zu erreichen, sind in diesem Zusammenhang wichtig. Diese Frage ist nur mit Ergebnissen einer Langzeit-Humanstudie zu beantworten. Ihre Klärung muss zukünftigen Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Weiterhin ist eine weitere vergleichende Humanstudie mit lipämischen und normolipämischen Probanden vorzuschlagen, um die bereits in der eigenen Studie gefundenen Cholesterolsenkenden Effekte der Haferprodukte zu bestätigen und ihre gesundheitsfördernde Relevanz einzuschätzen.

Ergebnisse der *In-vitro*-Experimente zeigten, dass ballaststoffreiche Haferprodukte den Stärkeabbau verlangsamen. Deswegen wird bei Aufnahme der Haferprodukte eine mögliche Abflachung des postprandialen Glucosepeaks und ein präventiver Effekt auf zahlreiche Spätkomplikationen des Diabetes mellitus vermutet. Der Nutzen dieser Haferprodukte für Diabetiker sollte überprüft werden.

Der Markt funktioneller Lebensmittel verzeichnet weltweit Zuwachsraten. Die in dieser Arbeit untersuchten ballaststoffreichen Haferprodukte sind als funktionelle Lebensmittel einzuordnen, die zugleich hypolipämisch und butyrogen wirken. Die Ergebnisse liefern eine Reihe von Ansatzpunkten für die Entwicklung zukünftiger funktioneller Lebensmittel auf der Basis von Hafer.

7 Literaturverzeichnis

- American Association of Cereal Chemists (AACC) Report (2001): The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World*, 43, 112-129.
- Adom, K.K. & R.H. Liu (2002): Antioxidant activity of grains. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 6182-6187.
- Agte, V. & S. Joshi (1991): In vitro binding of bile salts with plant fibres. *J. Food. Technol. (Mysore)*, 28, 226-229.
- Ahluwalia, B. & E.E. Ellis (1984): A rapid and simple method for the determination of starch and β -glucan in barley and malt. *J. Inst. Brew.*, 90, 254-259.
- Albersheim, P., A.G. Darvill, M.A. O'Neil, H.A. Schols & A.G.J. Voragen (1996): An hypothesis: The same six polysaccharides are components of the primary cells of all higher plants, p. 47-55. *In: J. Viser & A.G.J. Voragen (eds.), Pectin and Pectinases*, Elsevier, Amsterdam.
- Anderson, H., A.S. Levine & M.D. Levitt (1981): Incomplete absorption of the carbohydrate in all-purpose wheat flour. *N. Engl. J. Med.*, 304, 891-892.
- Anderson, J.W. & S.R. Bridges (1993): Hypocholesterolemic effects of oat bran in humans, p. 139-157. *In: P.J. Wood (ed.), Oat Bran*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, USA.
- Anderson, J.W., D.B. Spencer, C.C. Hamilton, S.F. Smith, J. Tietyen, C.A. Bryant & P. Oeltgen (1990): Oat-bran cereal lowers serum total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, 495-499.
- Anderson, J.W., L. Story, B. Sieling, W.J. Chen, M.S. Petro & J. Story (1984): Hypocholesterolemic effects of oat-bran or bean intake for hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 40, 1146-1155.
- Andersson, M., L. Ellegård & H. Andersson (2002): Oat bran stimulates bile acid synthesis within 8 h as measured by 7α -hydroxy-4-cholesten-3-one. *Am. J. Clin. Nutr.*, 76, 1111-1116.
- Archer S, S. Meng, J. Wu, J. Johnson, R. Tang & R. Hodin (1998): Butyrate inhibits colon carcinoma cell growth through two distinct pathways. *Surgery*, 124, 248-53.
- Arrigoni, E., A. Caprez, H. Neukom & R. Amadò (1987): Determination of water uptake by an automated method. *Lebensm. Wiss. Technol.* 20, 263-264.
- Asp, N.G. (1992): Preface: Resistant starch. Proceeding of the 2nd plenary meeting of EURESTA: European Flair Concerted Action No.11 (Cost 911) on physiological implication of the consumption of resistant starch in man. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 46, Suppl 2, S1.
- Asp, N.-G., J.M.M. van Amelsvoort & J.G.A.J. Hautvast (1996): Nutritional implications of resistant starch. *Nutr. Res. Rev.*, 9, 1-31.
- Autio, K. (1988): Rheological properties of solutions of oat β -glucan, p. 483-488. *In: G. O. Phillips, P. A. Williams & D. J. Wedlock (eds.), Gums and stabilisers for the food industry*. IRL Press, Oxford.
- Avivi-Green, C., S. Polak-Charcon, Z. Madar & B. Schwartz (2002): Different molecular events account for butyrate-induced apoptosis in two human colon cancer cell lines. *J. Nutr.*, 132, 1812-1818.
- Bach Knudsen, K.E., B.B. Jensen & I. Hansen (1993): Digestion of polysaccharides and other major components in the small and large intestine of pigs fed on diets consisting of oat fractions rich in β -D-glucan. *Br. J. Nutr.*, 70, 537-556.
- Baron, S.F. & P.B. Hylemon (2000): Biotransformation of bile acids, cholesterol, and steroid hormones, p. 470-510. *In: R.I. Mackie & B.A. White (eds.), Gastrointestinal Microbiology, Vol. 1. Gastrointestinal Ecosystems and Fermentations*. Chapman & Hall, New York.
- Bartram, H.-P., S. Englert, W. Scheppach, G. Dusel, F. Richter, A. Richter & H. Kasper (1994): Antagonistic effects of deoxycholic acid and butyrate on epithelial cell proliferation in the proximal and distal human colon. *Z. Gastroenterol.*, 32, 389-392.
- Beer, M.U., P.J. Wood & J. Weisz (1997): Molecular weight distribution and (1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan content of consecutive extracts of various oat and barley cultivars. *Cereal Chem.*, 74, 476-480.
- Beer, M.U. (1994): Gewinnung einer β -Glucan-reichen Haferkleiefraktion und deren Einfluss auf den Cholesterinspiegel im Blut des Menschen. Diss. ETH Zürich, 1994.
- Beer, M.U., E. Arrigoni & R. Amado (1995): Effect of oat gum on blood cholesterol levels in healthy young men. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 49, 517-522.

- Beer, M.U., P.J. Wood, J. Weisz & N. Fillion (1998): β -Glucan im Getreide: Physikochemische und physiologische Eigenschaften. *Getreide Mehl Brot*, 52, 336-340.
- Bemelmans, W.J., J. Broer, E.J. Feskens, A.J. Smit, F.A. Muskiet, J.D. Lefrandt, V.J. Bom, J.F. May & B. Meyboom-de Jong (2002): Effect of an increased intake of alpha-linolenic acid and group nutritional education on cardiovascular risk factors: the Mediterranean Alpha-linolenic Enriched Groningen Dietary Intervention (MARGARIN) study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 75, 221-227.
- Berg, A., D. König, P. Deibert, D. Grathwohl, A. Berg, M.W. Baumstark & I.-W. Franz (2003): Effect of an oat bran enriched diet on the atherogenic lipid profile in patients with an increased coronary heart disease risk. *Ann. Nutr. Metab.*, 47, 306-311.
- Berghofer, E. & T. Horn (1994): Bildung resistenter Stärke bei der Heißextrusion stärkereicher Rohstoffe. *Ernährung/Nutrition*, 18, 341-348.
- Berry, C.S. (1986): Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during determination of dietary fibre. *J. Cereal Sci.* 4, 301-314.
- Bhatty, R.S. (1992): Total and extractable β -glucan contents of oats and their relationship to viscosity. *J. Cereal Sci.*, 15, 185-192.
- Bhatty, R.S. (1987): Relationship between acid extract viscosity and total soluble and insoluble β -glucan contents of hulled and hullless barley. *Can. J. Plant Sci.*, 67, 997-1008.
- Bhatty, R.S. (1993): Extraction and enrichment of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan from barley and oat brans. *Cereal Chem.*, 70, 73-77.
- Bhatty, R.S., A.W. MacGregor & B.G. Rossnagel (1991): Total and soluble β -glucan contents of hullless barley and their relationship to acid extract viscosity. *Cereal Chem.*, 68, 221-227.
- Bingham, S.A., N.E. Day, R. Luben, P. Ferrari, N. Slimani, T. Norat, F. Clavel-Chapelon, E. Kesse, A. Nieters, H. Boeing, A. Tjønneland, K. Overvad, C. Martinez, M. Dorronsoro, C.A. Gonzalez, T.J. Key, A. Trichopoulou, A. Naska, P. Vineis, R. Tumino, V. Krogh, H.B. Bueno-de-Mequila, P.H.M. Peeters, G. Berglund, G. Hallmans, E. Lund, G. Skeie, R. Kaaks & E. Riboli (2003): Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. *Lancet* 361, 1496-1501.
- Blaut, M. (2002): Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora *Eur. J. Nutr.*, 41 (Suppl. 1), 11-16.
- BMVEL (ed.), S. 90-92 (2004): Statistisches Jahrbuch über Ernährung, Landwirtschaft und Forsten. Landwirtschaftsverlag, Münster-Hiltrup.
- Böhm, N. & W.-M. Kulicke (1999a): Rheological studies of barley (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan in concentrated solution: Investigation of the viscoelastic flow behaviour in the sol-state. *Carbohydr. Res.* 315, 293-301.
- Böhm, N. & W.-M. Kulicke (1999b): Rheological studies of barley (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan in concentrated solution: Mechanistic and kinetic investigation of the gel formation. *Carbohydr. Res.*, 315, 203-311.
- Bosscher, D., M. Van Caillie-Bertrand, R. Van Cauwenbergh & H. Deelstra (2003): Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. *Nutrition*, 19, 641-645.
- Bourdon, I., W. Yokoyama, P. Davis, C. Hudson, R. Backus, D. Richter, B. Knuckles & B.O. Schneeman (1999): Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with β -glucan. *Am. J. Clin. Nutr.*, 69, 55-63.
- Bourquin, L.D., E. Titgemeyer & G.C. Fahey (1996): Fermentation of various dietary fiber sources by human fecal bacteria. *Nutr. Res.*, 16, 1119-1131.
- Bowles, R.K., K.R. Morgan, R.H. Furneau & G.D. Coles (1996): ^{13}C CP/MAS NMR study of the interaction of bile acids with barley β -D-glucan. *Carbohydr. Polym.* 29, 7-10.
- Braaten, J.T., P.J. Wood, F.W. Scott, M.S. Wolynetz, M.K. Lowe, P. Bradley-White & M.W. Collins (1994): Oat β -glucan reduces blood cholesterol concentration in hypercholesterolemic subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 48, 465-474.
- Brouns, F., B. Kettlitz & E. Arrigoni (2002): Resistant starch and "the butyrate revolution". *Trends Food Sci. Technol.*, 13, 251-261.
- Brown, L., B. Rosner, W.W. Willett & F.M. Sacks (1999): Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 69, 30-42.
- Bryngelsson, S., B. Fogelfors, A. Kamal-Eldin & R. Andersson (2002): Lipids and antioxidants in groats and hulls of Swedish oats (*Avena sativa* L.). *J. Sci. Food Agric.*, 82, 606-614.

- BSA (ed.) (2004): Beschreibende Sortenliste Getreide, Mais, Ölfrüchte, Leguminosen (großkörnig), Hackfrüchte (außer Kartoffeln). S. 56. Bundessortenamt-Verlag, Hannover.
- Bugaut, M. & M. Bentejac (1993): Biological effects of short-chain fatty acids in nonruminant mammals, *Ann. Rev. Nutr.*, 13, 217-241.
- Burkitt, D.P. (1971): Epidemiology of cancer of the colon and rectum. *Cancer*, 28, 3-13.
- Burrows, V.D. (1986): Breeding oats for food and feed: Conventional and new techniques and materials. *In: Webster, F.H. (ed.), Oats: Chemistry and Technology. Am. Assoc. Cereal Chem., St. Paul, 13-46.*
- Cara, L., C. Dubois, P. Borel, M. Armand, M. Senft, H. Portugal, A.M. Pauli, P.M. Bernard & D. Lairon (1992): Effects of oat bran, rice bran, wheat fiber, and wheat germ on postprandial lipemia in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, 55, 81-88.
- Champ, M. (1992): Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 46, 51-62.
- Chang, Y.K., H.E. Martínez-Flores, F. Martínez-Bustos & V.C. Sgarbieri (2002): Effect of extruded products made with cassava starch blended with oat fiber and resistant starch on the hypocholesterolemic properties as evaluated in hamsters. *Nutraceut. Food*, 7, 133-138.
- Chen, H.L., V.S. Haack, C.W. Janecky, N.W. Vollendorf & J.A. Marlett (1998): Mechanisms by which wheat bran and oat bran increase stool weight in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 68, 711-719.
- Colonna, P., J. Tayeb & C. Mercier (1989): Extrusion cooking of starch and starchy products, p. 247-319. *In: C. Mercier, P. Linko & J.M. Harper (eds.), Extrusion Cooking. AACC, St. Paul, USA.*
- Cummings J.H. & G.T. Macfarlane (1997): Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism, *Clin. Nutr.*, 16, 3-11.
- Cummings, J.H. & W. Fröhlich (eds.), (1993): Dietary Fibre Intake in Europe. A Survey Conducted by the Members of the Management Committee of COST 92. Commission of the European Communities, Luxemburg.
- Cummings, J.H., E.R. Beatty, S.M. Kingman, S.A. Bingham & H.N. Englyst (1996): Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel. *Br. J. Nutr.*, 75, 733-747.
- Cummings, J.H., G.T. Macfarlane & H.N. Englyst (2001): Prebiotic digestion and fermentation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 73 (Suppl. 2), 415-420.
- Cummings, J.H., E.W. Pomare, W.J. Branch, C.P. Naylor & G.T. Macfarlane (1987): Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut*, 28, 1221-1227.
- Daniels, D.G.H. & H.F. Martin (1967): Antioxidants in oats: mono-esters of caffeic and ferulic acids. *J. Sci. Food Agric.*, 18, 589-595.
- Danielson, A.D., R.K. Newman, C.W. Newman & J.G. Berardinelli (1997): Lipid levels and digesta viscosity of rats fed a high-fiber barley milling fraction. *Nutr. Res.*, 17, 515-522.
- Dawkins, N.L. & I.A. Nnanna (1995): Studies on oat gum [(1→3, 1→4)-β-D-glucan]: Composition, molecular weight estimation and rheological properties. *Food Hydrocoll.*, 9, 1-7.
- De Schrijver, R., D. Fremaut & A. Verhayen (1992): Cholesterol-lowering effects and utilization of protein, lipid, fiber and energy in rats fed unprocessed and baked oat bran. *J. Nutr.*, 122, 1318-1324.
- De Vrese, M. (1997): Präbiotika. *Ernährungs-Umschau*, 44, 398-402.
- Delaney, B., T. Carlson, S. Frazer, T. Zheng, R. Hess, K. Ostergren, K. Kierzek, J. Haworth, N. Knutson, K. Junker & D. Jonker (2003): Evaluation of the toxicity of concentrated barley β-glucan in a 28-day feeding study in Wistar rats. *Food Chem. Toxicol.*, 41, 477-487.
- DGE (German Nutrition Society) (2000): Reference values for nutrient intake, S 52. Umschau-Verlag, Frankfurt/Main.
- Djouzi, Z. & C. Andrieux (1997): Compared effects of three oligosaccharides on metabolism of intestinal microflora in rats inoculated with a human faecal flora. *Br. J. Nutr.*, 78, 313-324.
- Dongowski, G. & R. Ehwald (1999): Binding of water, oil and bile acids to dietary fibers of the cellan type. *Biotechnology Progress*, 15, 250-258.
- Dongowski, G. & S. Sembries (2001): Effects of commercial pectolytic and cellulolytic enzymes preparations on the apple cell wall. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 4236-4242.
- Dongowski, G. & W. Bock (1993): Physikalisch-chemische Charakterisierung von Ballaststoffpräparaten, S. 95-119. *In: J. Schulze & W. Bock. Aktuelle Aspekte der Ballaststoffforschung. Behr's Verlag, Hamburg*

- Dongowski, G. (1995): Influence of pectin structure on the interaction with bile acids under *in vitro* conditions. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 201, 390-398.
- Dongowski, G. (1997): Effect of pH on the *in vitro* interactions between bile acids and pectin. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 205, 185-192.
- Dongowski, G., A. Lorenz & J. Proll (1996): Einfluß von Pektin auf die Gallensäure und neutrale Sterole in Darminhalten und Faeces von Ratten. *Z. Ernährungswiss.*, 35, S. 34.
- Dongowski, G., B. Schnorrenberger, M. Plätzer, M. Schwarz & R. Neubert (1997): Interactions between food components and drugs. Part 5: Effect of acetylation and amidation of pectin on the interaction with drugs. *Int. J. Pharm.* 158, 99-107.
- Dongowski, G., M. Huth & E. Gebhardt (2003): Steroids in the intestinal tract of rats are affected by dietary-fibre-rich Barley-based diets. *Br. J. Nutr.*, 90, 895-906.
- Dongowski, G., M. Huth, E. Gebhardt & W. Flamme (2002): Dietary fiber-rich barley products beneficially affect the intestinal tract of rats. *J. Nutr.*, 132, 3704-3714.
- Doublier, J.-L. & P.J. Wood (1995): Rheological properties of aqueous solutions of (1→3)(1→4)-β-D-glucan from oats (*Avena sativa* L.). *Cereal Chem.*, 72, 335-340.
- Dubois, C., L. Cara, P. Borel, M. Armand, M. Senft, H. Portugal, P.M. Bernard, H. Lafont & D. Lairon (1993): Cereal dietary fibers affect post-prandial lipoproteins in healthy subjects. *Carbohydr. Polym.*, 21, 189-194.
- Dubois, C., M. Armand, M. Senft, H. Portugal, A.M. Pauli, P.M. Bernard, H. Lafont & D. Lairon (1995): Chronic oat bran intake alters postprandial lipemia and lipoproteins in healthy adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, 61, 325-333.
- Duncan, S. H., G. Holtrop, G.E. Lobley, A.G. Calder, C.S. Stewart & H.J. Flint (2004): Contribution of acetate to butyrate formation by human faecal bacteria. *Br. J. Nutr.*, 91, 915-923.
- Eastwood, M.A. (1992): The physiological effect of dietary fibre: an update. *Ann. Rev. Nutr.*, 12, 19-35.
- Edwards, C.A., R.G. Wilson, L. Hanlon & M.A. Eastwood (1992): Effect of the dietary fibre content of lifelong diet on colonic cellular proliferation in the rat. *Gut*, 33, 1076-1079.
- Ellis, P.R., P. Rayment & Q. Wang (1996): A physico-chemical perspective of plant polysaccharides in relation to glucose absorption, insulin secretion and the entero-insular axis. *Proc. Nutr. Soc.*, 55, 881-898.
- Englyst, H.N., H.S. Wiggins & J.H. Cummings (1982): Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*. 107, 307-318.
- Englyst, H.N. & J.H. Cummings (1985): Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine. *Am. J. Clin. Nutr.*, 42, 778-787.
- Englyst, H.N. & J.H. Cummings (1986): Digestion of the polysaccharides of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in man. *Am. J. Clin. Nutr.*, 44, 42-50.
- Englyst, H.N., S.M. Klingman & J.H. Cummings (1992): Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.* 46 (Suppl. 2), 33-50.
- Erbersdobler, H.F. (1999): Neu entdeckte Lebensmittelinhaltsstoffe - Wirkungen und Wirkungsbauptungen. Was können Lebensmittel mit gesundheitlichem Zusatznutzen? *Moderne Ernährung heute*, 11, 1-5.
- Feldheim, E. (1990): Neues von Ballaststoffen unter besonderer Rücksichtigung von Sojagleie. *Ernährungs-Umschau*, 37, 467-471.
- Fernandez, M.L., D.M. Sun, M. Tosca & D.J. McNamara (1995): Differential effects of guar gum on LDL and hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed low and high cholesterol diets. *Am. J. Clin. Nutr.*, 61, 127-134.
- Fernandez, M.L., E.C.K. Lin, A. Trejo & D.J. McNamara (1994): Prickly pear (*Opuntia* sp) pectin alters hepatic cholesterol homeostasis without affecting cholesterol absorption in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. *J. Nutr.*, 124, 817-824.
- Fernández-Beñares, F., J. Hinojosa, J.L. Sánchez-Lombraña, E. Navarro, J.F. Martínez-Salmerón, A. García-Pugés, F. González-Huix, J. Riera, V. González-Lara, F. Dominguez-Abascal, J.J. Giné, J. Moles, M.D. Gomollón & M.A. Gassull (1999): Randomized clinical trial of *Plantago ovata* seeds with mesalamine in maintaining remission in ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol.*, 94, 427-433.

- Finegold, S.M., V.L. Sutter & G.E. Mathisen (1983): Normal indigenous intestinal flora. p. 3-31. *In: Hentges, D.J. (ed.), Human Intestinal Microflora in Health and Disease, Academic Press, New York.*
- Fitch, M.D. & S. E. Fleming (1999): Metabolism of short-chain fatty acids by rat colonic mucosa in vivo. *Am. J. Physiol.-Gastr. L.*, 277, G31-G40.
- Flachowsky, G., A. Schneider & G. Schaarmann (1994): Was sind und was bewirken Ballaststoffe? *Ernährungs-Umschau*, 41, 415 - 419.
- Forrest, I.S. & T. Wainwright (1977): The mode of binding of β -glucans and pentosans in barley endosperm cell walls. *J. Inst. Brew.*, 90, 88-94.
- Frank, J., B. Sundberg, A. Kamal-Eldin, B. Vessby & P. Åman (2004): Yeast-leavened oat breads with high or low molecular weight β -glucan do not differ in their effects on blood concentrations of lipids, insulin, or glucose in humans. *J. Nutr.*, 134, 1384-1388.
- Frölich, W. & M. Nyman (1988): Minerals, phytate and dietary fibre in different fractions of oat-grain. *J. Cereal Sci.*, 7, 73-82.
- Fuchs, C.S., E.L. Giovannucci, G.A. Colditz, D.J. Hunter, M.J. Stampfer, B. Rosner, F.E. Speizer & W.C. Willett (1999): Dietary fiber and risk of colorectal cancer and adenoma in women. *New Engl. J. Med.*, 340, 169-176.
- Fulcher, R.G. & S.S. Miller (1993): Structure of oat bran and distribution of dietary fiber components. p. 1-24. *In: P.J. Wood (ed.), Oat bran. AACC, St. Paul, MN.*
- Ganßmann, W. (1998): β -Glucan in Hafer und Haferprodukten. *Getreide Brot Mehl*, 52, 341-345.
- Garcia-Diez, F., V. Garcia-Mediavilla, J.E. Bayon & J. Gonzalez-Gallego (1996): Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid synthesis and serum cholesterol in rats. *J. Nutr.*, 126, 1766-1771.
- Gaudier, E., A. Jarry, H.M. Blottiere, P. de Coppet, M.P. Buisine, J.P. Aubert, C. Laboisse, C. Cherbut & C. Hoebler (2004): Butyrate specifically modulates MUC gene expression in intestinal epithelial goblet cells deprived of glucose. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 287, 1168-1174.
- Gebhardt, E., A. Habel, G. Dongowski, B. Drzikova & J. Hampshire (2004): Multifunktionelle Ballaststofflebensmittel auf Basis von Hafer. *Getreidetechnologie*, 58, 80-85.
- Gebhardt, E., V. Webers, G. Dongowski & M. Huth (1998): Generierung resistenter Stärke in Gerste durch Extrusion unter Protektion hoher Viskosität. *Getreide Brot Mehl*, 52, 241-247.
- Gerhardt, A. L. & N.B. Gallo (1998): Full-Fat Rice Bran and Oat Bran Similarly Reduce Hypercholesterolemia in Humans. *J. Nutr.*, 128, 865-869.
- Gibson, G.R. & M.B. Robertfroid (1995): Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 125, 1401-1414.
- Goodlad, R.A., W. Lenton, M.A. Ghatei, T.E. Adrian, S.R. Bloom & N.A. Wright (1987): Proliferative effects of 'fibre' on the intestinal epithelium: relationship to gastrin, enteroglucagon and PYY. *Gut*, 28, 221-226.
- Greger, J.L. (1999): Nondigestible carbohydrates and mineral bioavailability. *J. Nutr.*, 129, 1434-1435.
- Hague, A., B. Singh & C. Paraskeva (1997): Butyrate acts as a survival factor for colonic epithelial cells: further fuel for the in vivo versus in vitro debate. *Gastroenterology*, 112, 1036-1040.
- Hampshire, J. & D. Meyer (2000): Verarbeitungseigenschaften und β -Glucangehalte neu zugelassener Hafersorten und von Industriehafer. *Getreide Brot Mehl*, 54, 350-357.
- Hampshire, J. (1998): Zusammensetzung und ernährungsphysiologische Qualität von Hafer. *Ernährung/Nutrition*, 22, 505-508.
- Hampshire, J. (2003): Untersuchungen über die Vitamin E-Gehalte in Hafersorten und Industriehafer. *Deutsche Lebensm. Rdsch.*, 99, 222-231.
- Hampshire, J. (2004): Verarbeitungswert neuer Hafersorten – Ergebnisse aus den Landessortenversuchen. 13. Getreidenährmittel-Tagung, Detmold.
- Hampshire, J. (1993): Über die Bedeutung der unverseifbaren Komponenten im Haferöl. *Mühle Mischfüttertechnik*, 130, 17-18.
- Harper, J.M. (1992): Extrusion processing of starch. *In: Alexander, R.J. & H.F. Zobel (eds.), Developments in Carbohydrate Chemistry. AACC St. Paul, USA*, 37-64.
- Heinevetter, L. & Kroll, J. (1982). Zur Bestimmung der Wasserbindung pulverförmiger, quellfähiger Substanzen mittels einer Kapillarsaugmethode. *Nahrung* 26, 17-18.

- Henry R.J. (1987): Pentosan and (1–3)(1–4)- β -glucan concentrations in endosperm and whole grain of wheat, barley, oats and rye. *J. Cereal Sci.*, 6, 253-258.
- Hicks, V., S.C. Chen, S.A. Tepper & D. Kritchevsky (1995): The cholesterol-lowering effect of oat bran cereals in rats: Influence of processing. *J. Nutr. Biochem.*, 6, 246-249.
- Ho, S.S. & S. Pal (2004): Conjugated linoleic acid suppresses the secretion of atherogenic lipoproteins from human HepG2 liver cells. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 13, (Suppl.), 68.
- Hoagland, P. D. & P. E. Pfeffer (1987): Cobinding of bile acids to carrot fiber. *J. Agri. Food. Chem.*, 35, 316-319.
- Hofmann, A.F. (1994): Intestinal absorption of bile acids and biliary constituents. The intestinal components of the enterohepatic circulation and the integrated system. p. 1845-1865. *In: L.R. Johnson (ed.), Physiology of the Gastrointestinal Tract. 3rd ed.*, Raven Press, New York,
- Hofstad, B., M.H. Vatn, S. Andersen, R.W. Owen, S. Larsen & M. Osnes (1998): The relationship between faecal bile acid profile with or without supplementation with calcium and antioxidants on recurrence and growth of colorectal polyps. *Eur. J. Cancer Prevent.*, 7, 287-294.
- Hogberg, L, P. Laurin, K. Falth-Magnusson, C. Grant, E. Grodzinsky, G. Jansson, H. Ascher, L. Browaldh, J.A. Hammersjo, E. Lindberg, U. Myrdal & L. Stenhammar (2004): Oats to children with newly diagnosed coeliac disease: a randomised double blind study. *Gut*, 53, 649-654.
- Hori, T., K. Matsumoto, Y. Sakaitani, M. Sato & M. Morotomi (1998): Effect of deoxycholic acid and cholesterol on faecal steroid concentration and its impact on the colonic crypt cell proliferation in azoxymethane-treated rats. *Cancer Lett.*, 124, 79-84.
- Huang, C.-H. & N.H. Dural (1995): Adsorption of bile acids on several type food fibers. *J. Food Proc. Engin.*, 18, 243-266.
- Huth, M., G. Dongowski, E. Gebhardt & W. Flamme (2000): Functional properties of dietary fibre enriched extrudates from barley. *J. Cereal Sci.*, 32, 115-128.
- Ide, T. & M. Horii (1989): Predominant conjugation with glycine of biliary and lumen bile acids in rats fed on pectin. *Br. J. Nutr.*, 61, 545-557.
- Inglett, G.E. & R.K. Newman (1994): Oat β -glucan-amyloextrins: Preliminary preparations and biological properties. *Plant Foods Human Nutr.*, 45, 53-61.
- Jacobasch, G. & M. Blaut (1996): Protektive und therapeutische Butyrat-effekte auf die normale und neoplastische Dickdarmschleimhaut, Jahresbericht Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Potsdam-Rehbrücke, S 41-50.
- Jacobasch, G, D. Schmiedl, M. Kruschewski & K. Schmehl (1999): Dietary resistant starch and chronic inflammatory bowel diseases. *Int. J. Colorect. Dis.*, 14, 201-211.
- Jacobasch, G. & Dongowski, G. (2000): Ballaststoffe mit spezifischen Wirkungen. P.1-34 *In: H. F. Erbersdobler & A. H. Meyer. Praxishandbuch Functional Food*, Behr's Verlag, Hamburg.
- Jacobasch, G., D. Schmiedl & K. Schmehl (1997): Darmkrebsprävention durch resistente Stärke? Teil II: Stoffwechselprodukte der intestinalen Mikroflora, deren Beeinflussung durch resistente Stärke (RS) sowie deren Wirkung auf die Dickdarmschleimhaut und die kolorektale Kanzerogenese. *Ernährungs-Umschau*, 44, 369-373.
- Jahn-Deesbach, W. (1979): Neuere Untersuchungen über den Thiamin-(Vitamin-B₁-)Gehalt des Getreidekorns. *Getreide Mehl Brot*, 33, 256-264
- Jansen, M.C.J.F., H.B. Bueno-de-Mesquita, R. Buzina, F. Fidanza, A. Menotti, H. Blackburn, A.M. Nissinen, F.J. Kok & D. Kromhout (1999): Dietary fiber and plant foods in relation to colorectal cancer mortality: the seven countries study. *Int. J. Cancer*, 81, 174-179.
- Johansen, H.N., K.E. Bach Knudsen. P.J. Wood & R.G. Fulcher (1997): Physico-chemical properties and the degradation of oat bran polysaccharides in the gut of pigs. *J. Sci. Food Agric*, 73, 81-92.
- Johnson, I.T., J.M. Gee & J.C. Brown (1988): Plasma enteroglucagon and small bowel cytokinetics in rats fed soluble nonstarch polysaccharides. *Am. J. Clin. Nutr.*, 47, 1004-1009.
- Judd, P.A. & A.S. Truswell (1981): The effect of rolled oats on blood lipids and fecal steroid excretion in man. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 34, 2061-2067.
- Kerckhoffs, D.A.J.M., F. Brouns, G. Hornstra & R.P. Mensink (2002): Effects on human serum lipoprotein profile of β -glucan, soy protein and isoflavones, plant sterols and stanols, garlic and tocotrienols. *J. Nutr.*, 132, 2494-2505.
- Kerckhoffs, D.A.J.M., G. Hornstra & R.P. Mensink (2003): Cholesterol-lowering effect of β -glucan from oat bran in mildly hypercholesterolemic subjects may decrease when β -glucan is incorporated into bread and cookies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78, 221-227.

- Kestin, M., R. Moss, P.M. Clifton & P.J. Nestel (1990): Comparative effects of three cereal brans on plasma lipids, blood pressure, and glucose metabolism in mildly hypercholesterolemic men, *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, 661-666.
- Kirby, R., J.W. Anderson, B. Sieling, B. Rees, W. Chen, R. Miller & R. Kay (1981): Oat bran intake selectively lowers serum low-density lipoprotein cholesterol concentrations of hypercholesterolemic men. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 34, 824-829.
- Kleessen, B., G. Stoof, J. Proll, D. Schmiedl, J. Noack & M. Blaut (1997): Feeding resistant starch affects fecal and cecal microflora and short-chain fatty acids in rats. *J. Anim. Sci.*, 75(9), 2453-2462.
- Kokini, J.L., C.-T. Ho & M. V. Karwe (1992): *Food Extrusion Science and Technology*. Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong.
- Kolida, S.; K. Tuohy & G.R. Gibson (2002): Prebiotic effects of inulin and oligofructose, 87 (Suppl. 2), 193-197.
- Kripke, S.A., A.D. Fox, J.M. Berman, R.G. Settle & J.L. Rombeau (1989): Stimulation of intestinal mucosal growth with intracolonic infusion of short-chain fatty acids. *J. Parenter. Enteral Nutr.*, 13(2), 109-116.
- Kritchevsky, D. & C. Bonfield (eds.) (1995): *Dietary Fiber in Health and Disease*. Eagan Press, St. Paul, USA.
- Kühnau, J. & W. Ganßmann (eds.) (1987): *Hafer - Ein Element der modernen Ernährung*, Umschau Verlag Breidenstein GmbH, Frankfurt/Main.
- Lazaridou, A., C.G. Biliaderis & M.S. Izydorczyk (2003): Molecular size effects on rheological properties of oat β -glucans in solution and gels. *Food Hydrocolloids*, 17, 693-712.
- Le Blay, G., C. Michael, H.M. Blottiere & C. Cherbut (1999): Prolonged intake of fructo-oligosaccharides induces a short-term elevation of lactic acid producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats. *J. Nutr.*, 129, 2231-2235.
- Lebet, V., E. Arrigoni & R. Amadò (1998): Measurement of fermentation products and substrate disappearance during incubation of dietary fibre sources with human faeces flora. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 31, 473-479.
- Leclere, C.J., M. Champ, J. Boillot, G. Guille, G. Lecannu, C. Molis, F. Bornet, M. Krempf, J. Delort-Laval & J.P. Galmiche (1994): Role of viscous guar gum in lowering the glycemic response after mild solid meal. *Am. J. Clin. Nutr.*, 60, 976-977.
- Lehmann, U., G. Jacobasch & D. Schmiedl (2002): Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). *J. Agric. Food Chem.*, 50, 5236-5240.
- Lehmann, U., C. Rössler, D. Schmiedl & G. Jacobasch (2003): Production and physicochemical characterization of resistant starch type III derived from pea starch. *Nahrung/Food*, 47, 60-63.
- Lia, Å., G. Hallmans, A.-S. Sandberg, B. Sundberg, P. Åman & H. Andersson (1995): Oat β -glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barley fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62, 1245-1251.
- Lia, Å., H. Andersson, N. Mekki, C. Juhel, M. Senft & D. Lairon (1997): Postprandial lipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat-bran and wheat test meals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 66, 357-365.
- Loening-Baucke, V., E. Miele & A. Staiano (2004): Fiber (glucomannan) is beneficial in the treatment of childhood constipation. *Pediatrics*, 113, 259-264.
- Lupton J.R. (2004): Microbial degradation products influence colon cancer risk: the butyrate controversy. *J. Nutr.*, 134, 479-482.
- Lupton, J.R., J.L. Morin & M.C. Robinson (1993): Barley bran flour accelerates gastrointestinal transit time. *J. Am. Diet. Assoc.*, 93, 881-885.
- Lupton, J.R., M.C. Robinson & J.L. Morin (1994): Cholesterol-lowering effect of barley bran flour and oil. *J. Am. Diet. Assoc.*, 94, 65-70.
- Maier, S.M., N.D. Turner & Lupton J.R. (2000): Serum lipids in hypercholesterolemic men and women consuming oat bran and amaranth products. *Cereal Chem.*, 77, 297-302.
- Maki, K.C., F. Shinnick, M.A. Seeley, P.E. Veith, L.C. Quinn, P.J. Hallissey, A. Temer & M.H. Davidson (2003a): Food products containing free tall oil-based phytosterols and oat β -glucan lower serum total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic adults. *J. Nutr.*, 133, 808-813.

- Maki, K.C., M.H. Davidson, K. Ingram, P. Veith, M. Bell & E. Gugger (2003b): Lipid responses to consumption of a beta-glucan containing ready-to-eat cereal in children and adolescents with mild-to-moderate primary hypercholesterolemia. *Nutr. Res.*, 23, 1527-1535.
- Mälkki, Y., R. Törrönen, K. Pelkonen, O. Myllymäki, O. Hänninen & K. Syrjänen (1993): Effect of oat-bran concentrate on rat serum lipids and liver fat infiltration. *Br. J. Nutr.*, 70, 767-776.
- Marounek, M. & D. Duskova (1999): Metabolism of pectin in rumen bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens* and *Prevotella ruminicola*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 29, 429-433.
- Mathers, J.C., J. Kennard & O.F. James (1993): Gastrointestinal responses to oats consumption in young adult and elderly rats: digestion, large bowel fermentation and crypt cell proliferation rates. *Br. J. Nutr.*, 70, 567-584.
- McBurney M.I. & L.U. Thompson (1989): Effect of human faecal donor on in vitro fermentation variables. *Scand. J. Gastroenterol.*, 4, 359-367.
- McCleary, B.V. & L. Prosky (eds.) (2001): *Advanced Dietary Fibre Technology*. Blackwell Science, Oxford.
- McDougall, D.J., I.M. Morrison, D. Stewart & J.R. Hillman (1996): Plant cell wall as dietary fibre: Range, structure, processing and function. *J. Sci. Food Agric.*, 70, 133-150.
- McIntosh, G.M., R.K. Newman & C.W. Newman (1995): Barley foods and their influence on cholesterol metabolism. p. 89-108. *In: Simopoulos, A.P. (eds.), Plants in Human Nutrition*. World Review of Nutrition and Dietetics, Karger, Basel.
- McIntosh, G.H., J. Whyte, R. McArthur & P.J. Nestel (1991): Barley and wheat foods influence on plasma cholesterol concentrations in hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53, 1205-1209.
- McMillan, L., S. Butcher, Y. Wallis, J.P. Neoptolemos & J.M. Lord (2000): Bile acids reduce the apoptosis-inducing effects of sodium butyrate in human colon adenoma (AA/C1) cells: implications for colon carcinogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 273, 45-49.
- McMullen, M.S. (2000): Oats, p. 127-148. *In: Kulp, K. & J.G. Ponte, Jr. (eds.), Handbook of Cereal Science and Technology* Marcel Dekker, Inc., New York, Basel.
- McNiel, M., A.G. Darvill, S.C. Stephen & P. Albertsheim (1984): Structure and function of primary cell wall of plant. *Ann. Rev. Biochem.*, 53, 625-663.
- Meuser F., N. Gimmler & B. van Lengerich (1992): A Systems Analytical Approach to Extrusion p. 619-630 *In: Food Extrusion Science and Technology*. J.L. Kokini, C.T. Ho & M.V. Karve (eds.), Marcel Dekker Inc., New York.
- Miles, M.J. (1985): Recent observations on starch retrogradation. Morris, V.J., P.D. Orford & S.G. Ring. *In: Hill, R.D. & L. Munck (eds.), New Approaches to Research on Cereal Carbohydrates*, Elsevier Science Publ., Amsterdam.
- Miller, S.S. & R.G. Fulcher (1994): Distribution of (1→3),(1→4)-β-D-glucan in kernels of oats and barley using microspectrofluorometry. *Cereal Chem.*, 71, 64-68.
- Moghadasian, M.H. (2000). Pharmacological properties of plant sterols – in vivo and in vitro observations. *Life Sci.*, 67, 605-615.
- Mongeau, R. & R. Brassard (1982): Insoluble dietary fiber from breakfast cereals and brans: bile salt binding and water-holding capacity in relation to particle size. *Cereal Chem.*, 59, 413-417.
- Moreau, R.A., B.D. Whitaker & K.B. Hicks (2002): Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Progr. Lipid Res.*, 41, 457-500.
- Nagel-Held, B. (1995): Herstellung ernährungsphysiologisch wertvoller Fraktionen aus Gerste und deren Verarbeitung in Backwaren. Diss. Technische Universität Berlin.
- Nestares, T., M. Barrionuevo, M. Lopez-Frias, C. Vidal & G. Urbano (2003): Effect of different soaking solutions on nutritive utilization of minerals (calcium, phosphorus, and magnesium) from cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in growing rats. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 515-520.
- Neutra, M.R. & J.-P. Forstner (1987): Gastrointestinal mucus: synthesis, secretion and function, p. 975-1009. *In: L. R. Johnson (ed.), Physiology of the gastrointestinal tract*. Raven Press, New York.
- Newman, R.K., C.W. Newman & H. Graham (1989): The hypocholesterolemic function of barley β-glucan. *Cereals Food World*, 34, 883-885.
- Newman, R.K. & C.W. Newman (1991): Barley as a food grain. *Cereals Food World*, 36, 800-805.

- Nyman, E.M.G.-L. (2003): Importance of processing for physico-chemical and physiological properties of dietary fibre, *Proc. Nutr. Soc.*, 62, 187-192.
- Østergård, K., I. Björk & J. Vainionpää (1989): Effects of extrusion cooking on starch and dietary fibre in barley. *Food Chem.*, 34, 215-227.
- Owen, R.W. (1997): Faecal steroids and colorectal carcinogenesis. *Scand. J. Gastroenterol.*, 32 (Suppl. 222), S76-82.
- Parchure, A.A. & P.R. Kulkarni (1997): Effect of food processing treatments on generation of resistant starch. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 48, 257-260.
- Paton, D. (1977): Oat starch. *Stärke*, 29, 149-180.
- Peña M.J., C.E. Vergara & N.C. Carpita (2001): The structures and architectures of plant cell wall define dietary fibre composition and the textures of foods, p. 42-60. *In: V. McCleary & L. Prosky (eds.)*, *Advanced Dietary Fibre Technology*, Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Peraaho, M., P. Collin, K. Kaukinen, L. Kekkonen, S. Miettinen & M. Maki (2004): Oats can diversify a gluten-free diet in celiac disease and dermatitis herpetiformis. *Am. Diet Assoc.*, 104, 1148-1150.
- Pereira, MA, E. O'Reilly, K. Augustsson, G.E. Fraser, U. Goldbourt, B.L. Heitmann, G. Hallmans, P. Knekt, S. Liu, P. Pietinen, D. Spiegelman, J. Stevens, J. Virtamo, W.C. Willett & A. Ascherio (2004): Dietary fiber and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of cohort studies. *Arch Intern Med.*, 164, 370-376.
- Piironen, V., J. Toivo, A.M. Lampi (2002): Plant sterols in cereals and cereal products. *Cereal Chem.*, 79, 148-154.
- Pomare, E.W., W.J. Branch & J.H. Cummings (1985): Carbohydrate fermentation in the human colon and its relation to acetate concentrations in venous blood. *J. Clin. Invest.*, 75, 1448-1454.
- Rabassa, A.A. & A.J. Rogers (1992): The role of short-chain fatty acid metabolism in colonic disorders. *Am. J. Gastroenterol.*, 87, 419-423.
- Rabe, E. (1995): Glucan in Hafer. *Getreide Mehl Brot*, 49, 113-117.
- Ralet, M.-C., J.-F. Thibault & G. Della Valle (1990): Influence of extrusion-cooking on the physico-chemical properties of wheat bran. *J. Cereal Sci.*, 11, 249-259.
- Rambeck, W.A. & P. Weber (2001): Neue Entwicklungen bei der Osteoporoseprävention. *In: Erbersdobler, H.F. & A. H. Meyer (Hrsg.) Praxishandbuch Functional Food*. Behr's Verlag, Hamburg Abschnitt 10.1.
- Richter, V., K. Purschwitz, F. Rassoul, J. Thiery, H.-J.F. Zunft & C. Leitzmann (2004): Effects of diet modification on cardiovascular risk: results from the Leipzig wholesome nutrition study. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 13 (Suppl.), 106.
- Robertson, A.M. (1993): Roles of endogenous substances and bacteria in colorectal cancer. *Mutat. Res.*, 290, 71-78.
- Robertson, J.A., de Monredon, F.D., Dysseler, P., Guillon, F., Amadò, R., Thibault, J.-F. (2000): Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 33, 72-79.
- Robertson, J.A., G. Majsak-Newman & S.G. Ring (1997): Release of mixed linkage (1→3),(1→4) β-D-glucans from barley by protease activity and effects on ileal effluents. *Inter. J. Biol. Macromol.*, 21, 57-60.
- Robertson, J.A., P. Ryden & S.G. Ring (1997): Generation of oligomers from mixed linkage β glucan in the small intestine and the implications for dietary response to fibre. p. 137. *In: R. Hartemink (ed.)*, *Non-digestible Oligosaccharides: Healthy Food for the Colon?* Graduate School VLAG, Wageningen.
- Roediger, W.E.W. (1980): Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut*, 21, 793-798.
- Romero, A.L., K.L. West, T. Zern & M.L. Fernandez (2002): The seeds from *Plantago ovata* lowers plasma lipids by altering hepatic and bile acid metabolism in guinea pigs. *J. Nutr.*, 132, 1194-1198.
- Rössler, C., G. Jacobasch, D. Schmiedl & E. Gebhardt (2002): Resistente Stärke Typ 3 aus Roggenstärke, ein funktionelles Lebensmittel. *Ernährung/Nutrition*, 26, 297-305.
- Roy, P., R.W. Owen, J. Faivre, W. Scheppach, M.H. Saldanha, D.E. Beckly & M.C. Bourtron (1999): Faecal neutral sterols and bile acids in patients with adenomas and the large bowel cancer: an ECP case-control study. *Eur. J. Cancer Prev.*, 8, 409-415.

- Sakata, T. & W. von Engelhardt (1981): Luminal mucin in the large intestine of mice, rats and guinea pigs. *Cell Tissue Res.*, 219, 629-635.
- Sakata, T. (1987): Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. *Br. J. Nutr.*, 58, 95-103.
- Salminen, S., C. Bouley, M.C. Boutron-Ruault, J.H. Cummings, A. Franck, G.R. Gibson, E. Isolauri, M.C. Moreau, M. Roberfroid & I. Rowland (1998): Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br. J. Nutr.*, 80 (Suppl. 1), 147-171.
- Salter, J., M. Chaplin, J. Dickerson & J. Davies (1996): Bile acids and health: is fibre the answer? *Nutr. Food Sci.*, 6, 29-33.
- Sänger, A., E. Berghofer & B. Wepner (1997): Formation and behavior of RS during production and toasting of white bread. ICC International Symposium, Detmold.
- Scheppach, W., H. Sommer, T. Kirchner, G.M. Paganelli, P. Bartram, S. Christl, F. Richter, G. Dusel & H. Kasper (1992a): Effect of butyrate enemas on the colonic mucosa in distal ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 103, 51-56.
- Scheppach, W., H.P. Bartram & F. Richter (1995): Role of short-chain fatty acids in the prevention of colorectal cancer, *Eur. J. Cancer.*, 31A, 1077-1080.
- Scheppach, W., P. Bartram, A. Richter, F. Richter, H. Liepold, G. Dusel, G. Hofstetter, J. Ruthlein & H. Kasper. (1992b): Effect of short-chain fatty acids on the human colonic mucosa in vitro. *J. Parenter. Enteral Nutr.*, 16, 43-48.
- Schmidt, R., G. Thews & F. Lang (2000): *Physiologie des Menschen*. 28. Auflage. Springer, Berlin Heidelberg, New York, Tokio.
- Schmiedl, D., M. Bäuerlein, H. Bengs & G. Jacobasch (2000): Production of heat-stable, butyrogenic resistant starch. *Carbohydr. Polym.*, 43, 183-193.
- Scholz-Ahrens, K.E. & J. Schrezenmeir (2002): Inulin, oligofructose and mineral metabolism - experimental data and mechanism. *Br. J. Nutr.*, 87 (Suppl 2), 179-186.
- Schulze, J. & H.-J., Zunft (1993): Nahrungsbestandteile mit Ballaststoffcharakter. P. 47-61. *In: J. Schulze & W. Bock, Aktuelle Aspekte der Ballaststoffforschung*. Behr's Verlag, Hamburg
- Schwarz, P.B. & Y.-T. Lee (1995): Rheological and chemical characterization of (1→3),(1→4)- β -glucans from hull-less barley, p. 99-103. *In: Meuser, F., Manners, D.J. & Seibel, W. (eds.), Progress in Plant Polymeric Carbohydrate Research*, Behr's Verlag, Hamburg.
- Seal, C.J. & J.C. Mathers (2001): Comparative gastrointestinal and plasma cholesterol responses of rats fed on cholesterol-free diets supplemented with guar gum and sodium alginate. *Br. J. Nutr.*, 85, 317-324.
- Settegast, R. (1963) *In: Nehring, K.: Lehrbuch der Tierernährung und Futtermittelkunde*, 8. Aufl., Neumann Verlag, Radebeul und Berlin.
- Sharma, R., U. Schumacher, V. Ronaasen & M. Coates (1995): Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diets. *Gut*, 36, 209-214.
- Shinnick, F.L., R. Mathews & S. Ink (1981): Serum cholesterol reduction by oats and other fiber sources. *Cereal Foods World*, 36, 815-821.
- Slavin, J., L. Marquart & D. Jacobs (2000): Consumption of whole-grain foods and decreased risk of cancer: proposed mechanisms, *Cereal Foods World*, 45, 54-58.
- Sosulski, F., K. Krzysztof & L. Hogge (1982): Free, esterified and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *J. Agric. Food Chem.*, 30, 337-340.
- Souci, S.W., W. Fachmann & H. Kraut (2000): *Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen*, 6., revidierte und ergänzte Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.
- Southgate, D.A.T. (1991): *Determination of food carbohydrates*. Elsevier, London and New York.
- Stephen, A.M., W.J. Dahl, D.M. Johns & H.V. Englyst (1997): Effect of oat hull fiber on human colonic function and serum lipids. *Cereal Chem.*, 74, 379-383.
- Storsrud S., L.R. Hulthen & R.A. Lenner (2003): Beneficial effects of oats in the gluten-free diet of adults with special reference to nutrient status, symptoms and subjective experiences. *Br. J. Nutr.*, 90 (1), 101-107.
- Sundberg, B., P. Wood, Å. Lia, H. Andersson, A.-S. Sandberg, G. Hallmans & P. Åman (1996): Mixed-linked β -glucan from breads of different cereals is partly degraded in the human ileostomy model. *Am. J. Clin. Nutr.*, 64, 878-885.

- Szczodrak, J. & Y. Pomeranz (1991): Starch and enzyme-resistant starch from high-amylose barley. *Cereal Chem.*, 68, 589-596.
- Tappy, L., E. Gügolz & P. Würsch (1996): Effects of breakfast cereals containing various amounts of β -glucan fibers on plasma glucose and insulin responses in NIDDM subjects. *Diabetes Care*, 19, 831-834.
- Tejinder, S., K. Bhupinder & K. Harinder (2000): Flow behavior and functional properties of barley and oat water-soluble β -D-glucan rich extractions. *Int. J. Food Prop.*, 3, 259-274.
- Tieteyen, J.L., D.J. Nevins, C.F. Shoemaker & B.O. Schneeman (1995): Hypocholesterolemic potential of oat bran treated with endo- β -D-glucanase from *Bacillus subtilis*. *J. Food. Sci.*, 60, 558-560.
- Topping D. L. & P. M. Clifton (2001): Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol. Rev.*, 81: 1031-1064.
- Torre, M., A.R. Rodriguez & F. Saura-Calixto (1991): Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, 30, 1-22.
- Törrönen, R., L. Kansanen, M. Uusitupa, O. Hänninen, O. Myllymäki, H. Härkönen & Y. Mälkki (1992): Effects of an oat bran concentrate on serum lipids in free-living men with mild to moderate hypercholesterolaemia. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 46, 621-627.
- Trautwein, E.A., C. Schulz, D. Rieckhoff, A. Kunath-Rau, H.F. Erbersdobler, W.A. de Groot & G.W. Meijer (2002): Effect of esterified 4-desmethylsterols and -stanols or 4,4'-dimethylsterols on cholesterol and bile acid mechanism in hamsters. *Br. J. Nutr.*, 87, 227-237.
- Trautwein, E.A. (2001): Ballaststoffe (dietary fibre) und Herz-Kreislauf-Erkrankungen. *In: Erbersdobler, H.F. & A. H. Meyer (Hrsg.) Praxishandbuch Functional Food. Behr's Verlag, Hamburg Abschnitt 10.3.*
- Trowell, H. (1972): Ischemic heart disease and dietary fiber. *Am. J. Clin. Nutr.*, 25, 926-932.
- Trowell, H. (1978): The development of the concept of dietary fiber in human nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31 (Suppl. 3), 3-11.
- Truswell, A.S. (2002): Cereal grains and coronary heart disease. *Eur J Clin Nutr.*, 56, 1-14.
- Tudorica, C.M., V. Kuri & C.S. Brennan (2002): Nutritional and physicochemical characteristics of dietary fiber enriched pasta. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 347-356.
- Unlu, E. & J.F. Faller (1998): Formation of resistant starch by a twin-screw extruder. *Cereal Chem.*, 75, 346-350.
- Van Horn, L.V., K. Liu, D. Parker, L. Emidy, Y.L. Liao, W.H. Pan, D. Giumetti, J. Hewitt & J. Stamler (1986): Serum lipid response to oat product intake with a fat-modified diet. *J. Am. Diet. Assoc.*, 86, 759-764.
- Vårum, K. M., A. Martinsen & O. Smidsrød (1991): Fractionation and viscometric characterisation of a (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan from oat and using universal calibration of high-performance size chromatographic system by the use of fractionated β -glucans, alginates and pullulans. *Food Hydrocoll.*, 5, 363-374.
- Vasanthan, T., J. Gaosong, J. Yeung & J. Li (2002): Dietary fiber profile of barley flour as affected by extrusion cooking. *Food Chem.*, 77, 35-40.
- Velázquez, O.C., H.M. Lederer & J.L. Rombeau (1996): Butyrate and the colonocyte: implications for neoplasia. *Dig. Dis. Sci.*, 41 (4), 727-739.
- Voragen, F.G., G. Beldman & H. Schols (2001): Chemistry and enzymology of pectins, p. 379-398. *In: V. McCleary & L. Prosky (eds.), Advanced Dietary Fibre Technology, Black-well Science Ltd., Oxford.*
- Wang, X. & G.R. Gibson (1993): Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J. Appl. Bacteriol.*, 75, 373-80.
- Weaver, G.A., C.T. Tangel, J.A. Krause, M.M. Parfitt, P.L. Jenkins, J.M. Rader, B.A. Lewis, T.L. Miller & M.J. Wolin (1997): Acarbose enhances human colonic butyrate production. *J. Nutr.*, 127, 717-723.
- Wepner, B., E. Berghofer & K. Tiefenbacher (1997): Influence of temperature and recipe composition on the RS content and product parameters of wafers. ICC International Symposium, Detmold.
- Westerlund, E., R. Andersson & P. Åman (1993): Isolation and chemical characterization of water-soluble mixed-linked β -glucans and arabinoxylans in oat milling fractions. *Carbohydrate Polymers*, 20, 115-123.
- Wood, P.J., J.W. Anderson, J.T. Braaten, N.A. Cave, F.W. Scott & C. Vachon (1989) *Cereal Foods World*, 34, S. 878.

- Wood, P.J., J. Weisz & P. Febec (1991a): Potencial for β -glucan enrichment in brans derived from Oat (*Avena sativa* L.) cultivars of different (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan concentrations. *Cereal Chem.*, 68, 48-51.
- Wood, P.J. (1986): Oat β -glucan: structure, location and properties, p. 124-152. *In*: Webster, F. H. (ed.), Oats chemistry and technology. American Association of Cereal Chemists, St. Paul.
- Wood, P.J., J. Weisz, P. Fedec & V.D. Burrows (1989). Large-scale preparation and properties of oat fractions enriched in (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4)- β -D-glucan. *Cereal Chem.* 66, 97-103.
- Wood, P.J. (1991): Studien zur Anreicherung von β -Glucan in Haferspeisekleie und mögliche ernährungsphysiologische Vorteile. *Getreide Mehl Brot*, 11, 327-331.
- Wood, P.J. (1993): Physicochemical characteristics and physiological properties of oat (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucan, p. 83-112. *In*: Wood, P. J. (ed.), Oat bran. American Association of Cereal Chemists, St. Paul.
- Wood, P.J., Braaten, J.A., Scott, F.D., Riedel, K.D., Wolynetz, M.S. & Collins, M.W. (1994a): Effect of dose and modification of viscous oat gum on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. *Br. J. Nutr.* 72, 731-743.
- Wood, P.J., J. Weisz & B.A. Blackwell (1994b): Structural studies of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucans by ^{13}C -nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase. *Cereal Chem.*, 71, 301-307.
- Wood, P.J., J. Weisz & W. Mahn (1991b): Molecular characterization of cereal glucans. II. SEC for comparison of molecular weight. *Cereal Chem.*, 68, 530-536.
- Woodward, J.R., G.B. Fincher & B.A. Stone (1983): Water soluble (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucans from barley (*Hordeum vulgare*) endosperm. II Fine structure. *Carbohydr. Polym.*, 3, 207-225.
- Wright, R.S., J.W. Anderson & S.R. Bridges (1990): Propionate inhibits hepatocyte lipid synthesis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 195, 26-29.
- Yokoyama, W.H., C.A. Hudson, B.E. Knuckles, M.-C.M. Chiu, R.N. Sayre, J.R. Turnlund & B.O. Schneeman (1997): Effect of barley β -glucan in durum wheat pasta on human glycemic response. *Cereal Chem.*, 74, 293-296.
- Young, G.P. & R.K. Le Leu (2004): Resistant starch and colorectal neoplasia. *J AOAC*, 87(3), 775-786.
- Zhang, D., D.C. Doehlert & W.R. Moore (1998): Rheological properties of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 4)- β -D-glucans from raw, roasted, and steamed oat groats. *Cereal Chem.*, 75, 433-438.
- Zhang, J.-X., G. Hallmans, H. Adlercreutz, P. Åman, E. Westerlund, E. Lundin & R. Stenling (1994): Effects of oat and rye fractions on biliary and fecal bile-acid profiles in Syrian golden-hamsters. *Br. J. Nutr.*, 70, 525-536.
- Zunft, F.H.-J. (2001): Functional Food in der Prävention und Therapie der Adipositas. *In*: Erbersdobler, H.F. & A. H. Meyer (Hrsg.) *Praxishandbuch Functional Food*. Behr's Verlag, Hamburg Abschnitt 10.2.
- Zunft, F.H.-J., C. Hanisch, S. Müller, C. Koebnick, M. Blaut & J. Dore (2004a): Symbiotic containing *Bifidobacterium animalis* and inulin increases stool frequency in elderly healthy people. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 13 (Suppl.), S112.
- Zunft, F.H.-J., W. Lüder, A. Harde, B. Haber, H.J. Graubaum, C. Koebnick & J. Grünwald (2003): Carob pulp preparation rich in insoluble fibre lowers total and LDL cholesterol in hypercholesterolemic patients. *Eur. J. Nutr.* 42, 235-242.
- Zunft, F.H.-J., W. Lüder, C. Koebnick, D. Imhof & F. Meuser (2004b): Reduction of the postprandial glucose and insulin response in serum of healthy subjects by an arabinoxyl concentrate isolated from wheat starch plant process water. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 13(Suppl.), S147.

8 Anhang

Tab. A3-1: Nährmedien und Kultivierungsbedingungen

Bakteriengruppe	Medium	Bebrütung
Gesamtzellzahl aerob	Columbia Blutagar ¹ mit Schafblut	48 h bei 37 °C, aerob
Gesamtzellzahl anaerob	Columbia Blutagar ¹ mit Schafblut	48 h bei 37 °C, anaerob
<i>Escherichia coli</i>	Endo-Agar ¹	24 h bei 37 °C, aerob
aerobe <i>Lactobacillus sp.</i>	Rogosa-Agar ²	48 h bei 37 °C, aerob
<i>Bacteroides</i>	Columbia Blutagar mit Neomicinzusatz ³	48 h bei 37 °C, anaerob
<i>Bifidobacterium sp.</i>	Medium nach Haenel/Müller-Beuthow ⁴	48 h bei 37 °C, anaerob

¹ Fa. BioMérieux (Nürtingen); ² Fa. Fluka (Taufkirchen); ³ Columbia Blutagar Basis mit 5 % defibriniertem Schafblut (Fa. Oxoid, Wesel), 0,1 g/l Neomycinsulfat (Fa. Fluka) und 0,2 g/l Na-Desoxycholat (Fa. Fluka); ⁴ 10 g/l Pepton (Fa. Merck), 7 g/l Hefeextrakt (Fa. Merck), 3 g/l NaCl, 2 g/l Na₂HPO₄, 10 g/l Agar (Fa. Fluka), 0,5 g/l Cystin (Fa. Fluka), 0,5 g/l Cystein (Fa. Fluka), 0,1 g/l NaN₃ (Fa. Fluka), 12,5 mg/l Bromkresolgrün (Fa. Fluka), 0,25 mg/l Neutralrot (Fa. Fluka) und 2,5 ml Salzlösung B (40 g MgSO₄ × 7 H₂O, 2 g/l FeSO₄ × 7 H₂O, 2 g/l NaCl, 1,35 g/l MnSO₄ × 2 H₂O).

Tab. A3-2: Steroidstandards für GS- und NS- Bestimmung

Substanz	Hersteller
Glycodesoxycholsäure	Sigma (St. Louis, USA)
Glycocholsäure	Sigma
Cholsäure (C)	Sigma
Lithocholsäure (LC)	Sigma
Hyodesoxycholsäure (HDC)	Sigma
Taurodesoxycholsäure (TDC)	Sigma
5 α -Cholestan-3-on (Cholestanon)	Sigma
5 β -Cholestan-3 β -ol (Coprostanol)	Serva (Heidelberg)
Chenodesoxycholsäure (CDC)	Fluka (Neu-Ulm)
Desoxycholsäure	Fluka
Ursodesoxycholsäure	Fluka
Cholesterol und 3 β -Cholestan-3-on (Coprostanon)	Fluka
α - und β -Muricholsäuren	Steraloids (Willton, USA)
7-Ketodesoxycholsäure (KDC)	Steraloids
12-Ketolithocholsäure (KLC)	Steraloids
Taurochenodesoxycholsäure (TCDC)	Calbiochem (LaJolla, USA)
Taurocholsäure (TC),	Calbiochem
5-Cholesten-3 β ,25-diol,3 β ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholanansäure	Calbiochem
7 α ,12 β -Dihydroxy-5 β -cholansäure	Calbiochem

Tab. A3-3: Gewebeeinbettung

Medium	Zeit (h)	Temperatur (°C)	Vakuum
Ethanol 40 %	2:00	40	ohne
Ethanol 55 %	2:00	40	ohne
Ethanol 70 %	1:30	40	ohne
Ethanol 96 %	1:30	40	ohne
Ethanol 100 %	0:45	40	ohne
Ethanol 100 %	1:00	40	ohne
Ethanol 100 %	1:30	40	ohne
Toluol	2:00	40	ohne
Toluol	2:00	40	mit
Histoplast	1:45	60	mit
Histoplast	1:45	60	mit

Tab. A3-4: Rehydrieren und Dehydrieren der Gewebeschnitte

Rehydrieren der Schnitte		Dehydrieren der Schnitte	
Medium	Zeit (min)	Medium	Zeit (min)
Toluol	2:00	dest. Wasser	0:15
Toluol	3:00	Ethanol 70 %	1:30
Ethanol 100 %	2:00	Ethanol 96 %	2:00
Ethanol 100 %	3:00	Ethanol 100 %	2:00
Ethanol 96 %	2:00	Ethanol 100 %	2:30
Ethanol 70 %	1:45	Toluol	2:30
Ethanol 40 %	2:00	Toluol	3:30
dest. Wasser	1:30	Eindecken in Histomount	

Tab. A3-5: Chemikalien für die histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen

Substanz	Hersteller
Alzianblau	Merck (Darmstadt)
Antikörperverdünnungsmedium	Dako (Hamburg)
DAB-Substrat-Chromogen System	Dako
Eosin	Fluka (Deisenhofen)
Formaldehydlösung, Histofix-Roti®	Roth (Karlsruhe)
Histomount	Shandon (Frankfurt)
Histoplast	Shandon
Hämatoxylin	Merck
Perjodsäure	Fluka
Puffer für Mikrowellenbehandlung, ChemMate™	Dako
Schiffsches Reagenz	Merck
StreptAB-Komplex/POD	Dako
Tween 20	Sigma-Aldrich Chemie (Steinheim)
Wasserstoffperoxid, 30 %	Roth

Tab. A4-1 Generierung von resistenter Stärke während der Extrusion von Haferprodukten allein und in Gegenwart von Zusätzen

Haferpräparat	Zusatz		SME ¹ (Wh/kg)	Resistente Stärke (%) ²
		(%)		
Hafer			31,7	0,5
Hafer	Hylon VII	20	32,2	5,4
Hafer	Eurylon 7	20	33,3	4,4
Hafer	Novelose 240	20	31,3	6,4
Hafer	Novelose 330	20	64,7	10,6
Hafer	Amioka	20	28,0	0,5
Hafer	Waxyliis 200	20	26,9	0,3
Hafer	Maisstärke	20	86,5	0,8
Hafer	Maisstärke/Citronensäure	15/5	54,5	1,1
Hafer	Dextrin	20	51,3	0,5
Hafer	Pullulanase		68,8	0,6
Haferstärkemehl			60,9	0,7
Haferkleie			35,2	0,3
Sorte „Marion“			52,9	0,3
Sorte „Hecht“			56,5	0,4
Sorte „Kanton“			55,6	1,3

¹spezifische mechanische Energieeinleitung; ²bezogen auf Trockenmasse; Extrusionsbedingungen: Temperatur 130 °C, Feuchte 25 %, Drehzahl 200 U/min.

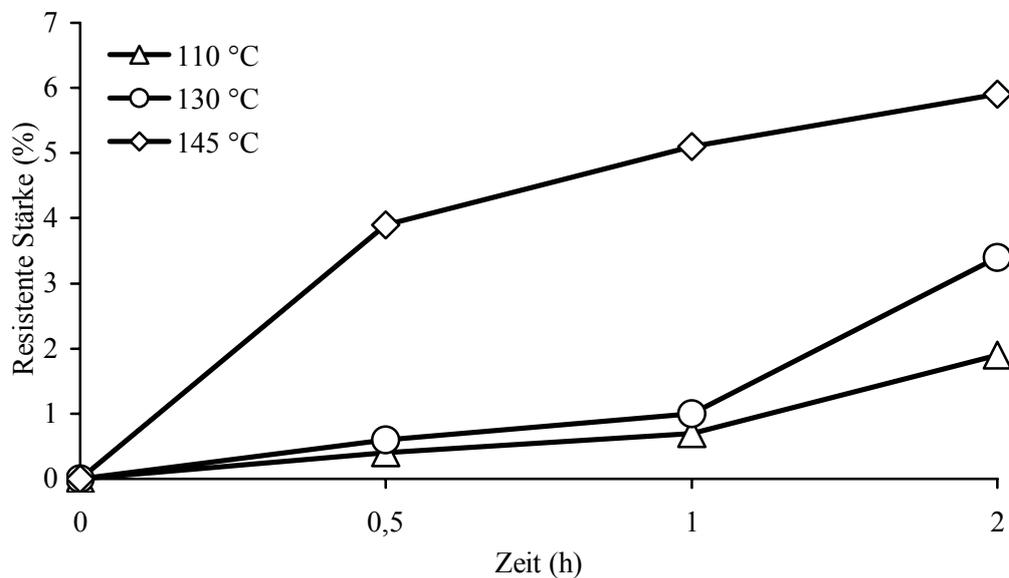


Abb. A4-1: Einfluss der Temperatur und Behandlungszeit auf die Bildung von resistenter Stärke (bezogen auf TM) beim Autoklavieren von Hafer.

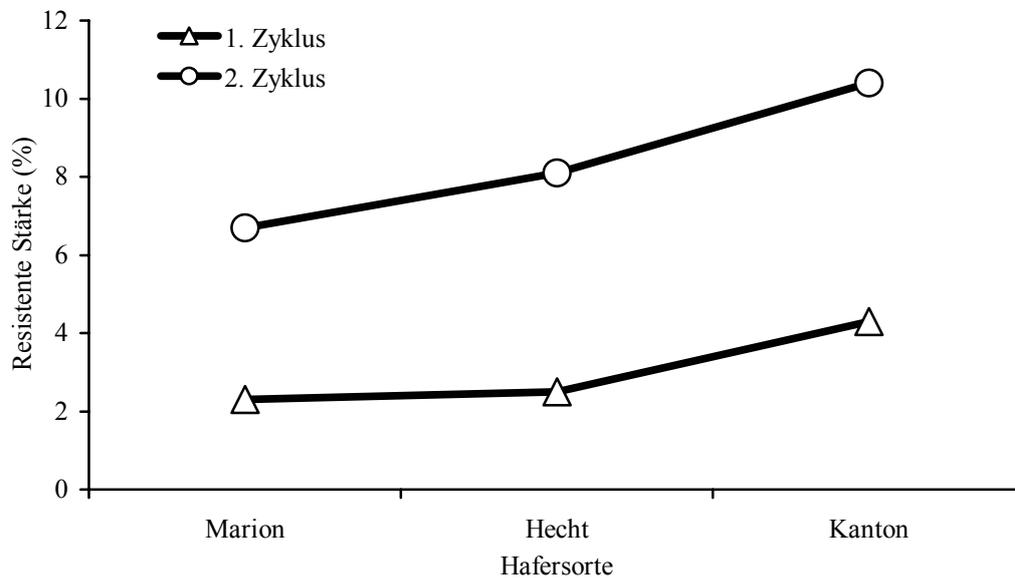


Abb. A4-2: Einfluss der Autoklavierzyklen auf die Bildung von resistenter Stärke aus sortenreinem Hafer (Autoklavierbedingungen: 1 h bei 140 °C und 20 % Feuchte).

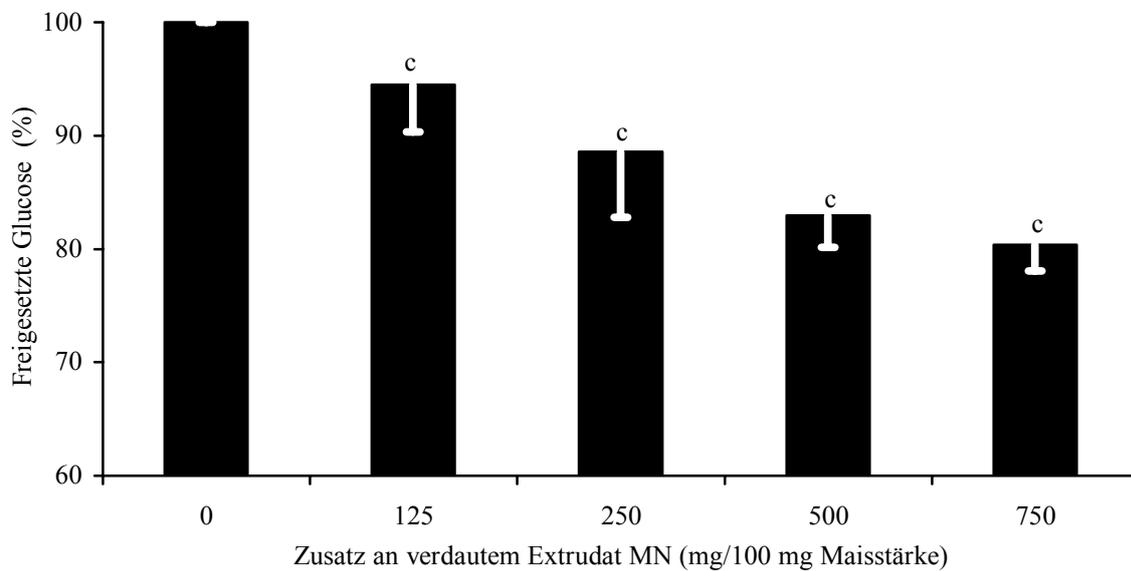


Abb. A4-3: Einfluss der Konzentration an verdautem Haferextrudat MN auf den Abbau von Maisstärke (100 mg) mit Pankreatin (1 h bei 37 °C und pH 5,2). Mittelwerte \pm SD; $n = 8$; ^c $P < 0,001$ gegenüber dem Versuch ohne Extrudat.

Tab. A4-2: Einfluss der individuellen Faecesflora von 3 Probanden auf die Bildung von SCFA nach 8 h Fermentation der verdauten Extrudate (Werte sind auf 1 g Original-Extrudat berechnet).

Proband	Extrudat	Acetat	Propionat	Butyrat	<i>iso</i> -Valeriat	<i>n</i> -Valeriat	Summe
		(µmol SCFA/g Original-Extrudat)					
1	M	807 ± 55,2	149 ± 6,4	385,7 ± 23,5	21,7 ± 0,6	45,8 ± 1,1	1408 ± 81,3
	MN	691 ± 45,1*	178 ± 7,6*	462,1 ± 28,1*	26,0 ± 0,7*	54,8 ± 1,3*	1413 ± 37,8*
	MKN1	854 ± 29,1*	124 ± 1,7*	452,2 ± 2,7*	16,7 ± 1,0*	37,7 ± 0,4*	1485 ± 29,5*
	MKN2	1010 ± 25,0*	132 ± 4,0*	501,2 ± 18,6*	15,8 ± 1,1*	38,6 ± 1,4*	1697 ± 47,3*
	KN	1089 ± 82,2*	134 ± 11,0	609,1 ± 18,6*	14,6 ± 2,5*	41,3 ± 3,3*	1888 ± 111*
2	M	710 ± 113,1	291 ± 32,5	244,2 ± 23,8	71,9 ± 2,3	83,9 ± 9,4	1401 ± 180
	MN	794 ± 80,8	299 ± 16,5	279,7 ± 15,6	64,0 ± 2,1	95,9 ± 5,8	1532 ± 120
	MKN1	978 ± 198,2	359 ± 56,2	358,7 ± 56,2*	86,1 ± 14,4	129 ± 28,8*	1910 ± 431
	MKN2	923 ± 107,6	369 ± 38,7*	347,8 ± 22,4*	94,2 ± 11,3*	141 ± 12,6*	1876 ± 192*
	KN	794 ± 82,8	322 ± 25,0	303,9 ± 21,4*	67,9 ± 9,4	108 ± 7,5*	1595 ± 132
3	M	571 ± 39,5	292 ± 23,0	274,0 ± 9,0	29,3 ± 3,0	47,7 ± 5,6	1214 ± 45,8
	MN	617 ± 122,8	324 ± 16,0	369,9 ± 11,1*	33,0 ± 2,7	56,7 ± 1,1*	1401 ± 111
	MKN1	838 ± 132,9*	391 ± 44,5*	411,5 ± 58,6*	35,5 ± 2,0*	67,3 ± 5,4*	1743 ± 241*
	MKN2	1059 ± 60,8*	458 ± 11,7*	481,6 ± 25,1*	37,0 ± 1,5*	77,5 ± 2,7*	2113 ± 96,1*
	KN	1021 ± 49,9*	443 ± 20,4*	500,2 ± 27,1*	34,1 ± 0,8*	74,8 ± 3,5*	2072 ± 90,9*

Mittelwerte ± SD; $n = 4$; * $P \leq 0,05$ gegenüber Extrudat M

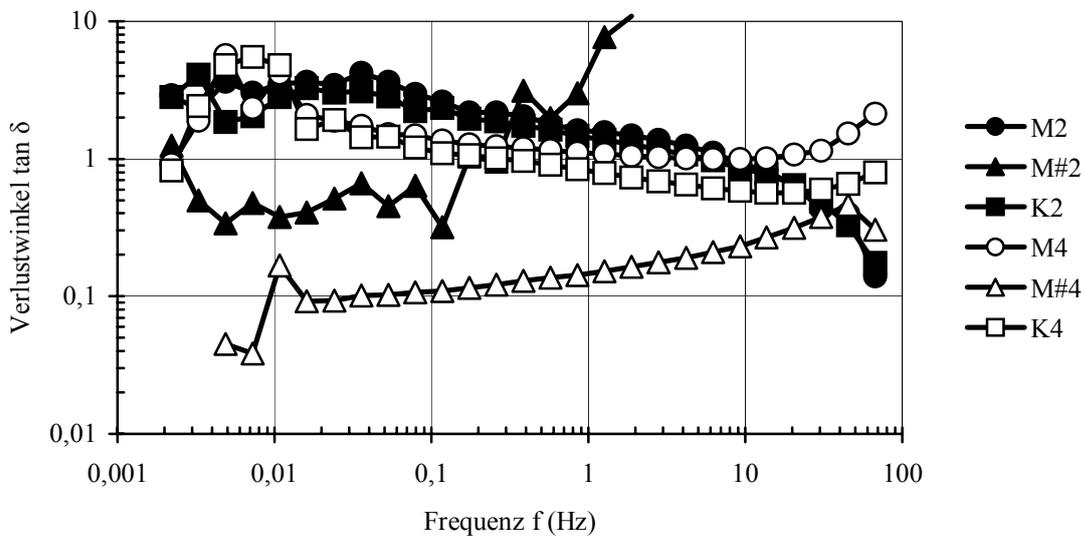


Abb. A4-4: Verlustwinkel $\tan \delta$ im Frequenzsweep der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 sowie 4 %.

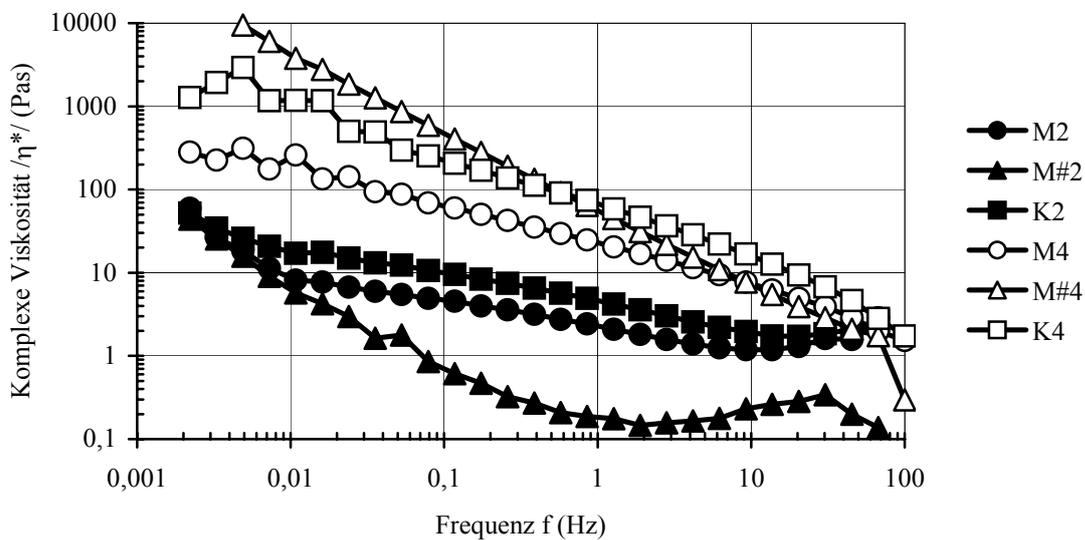


Abb. A4-5: Komplexe Viskosität $|\eta^*|$ im Frequenzsweep der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 sowie 4 %.

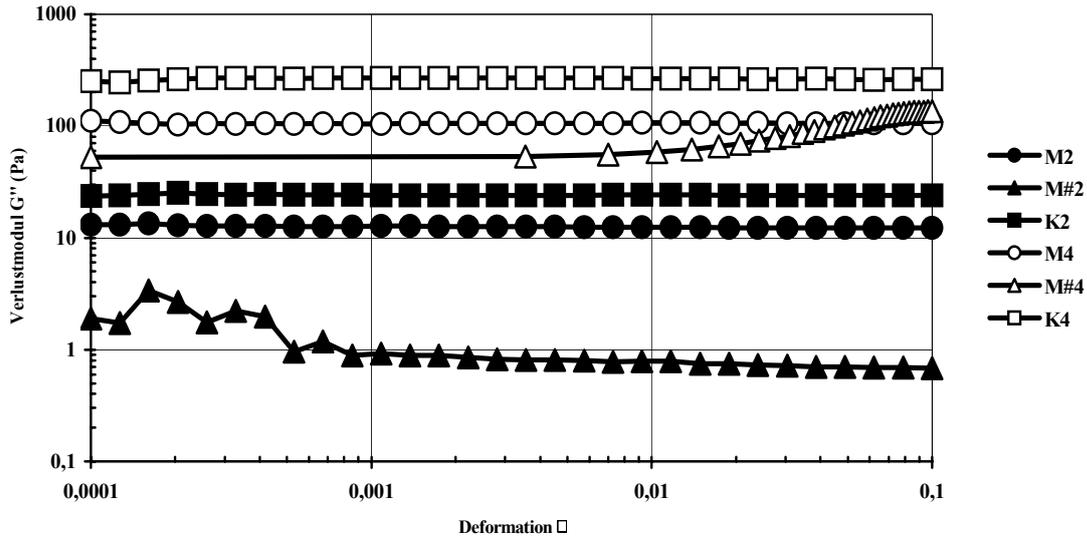


Abb. A4-6: Verlustmodul G'' im Amplitudensweep der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 sowie 4 %.

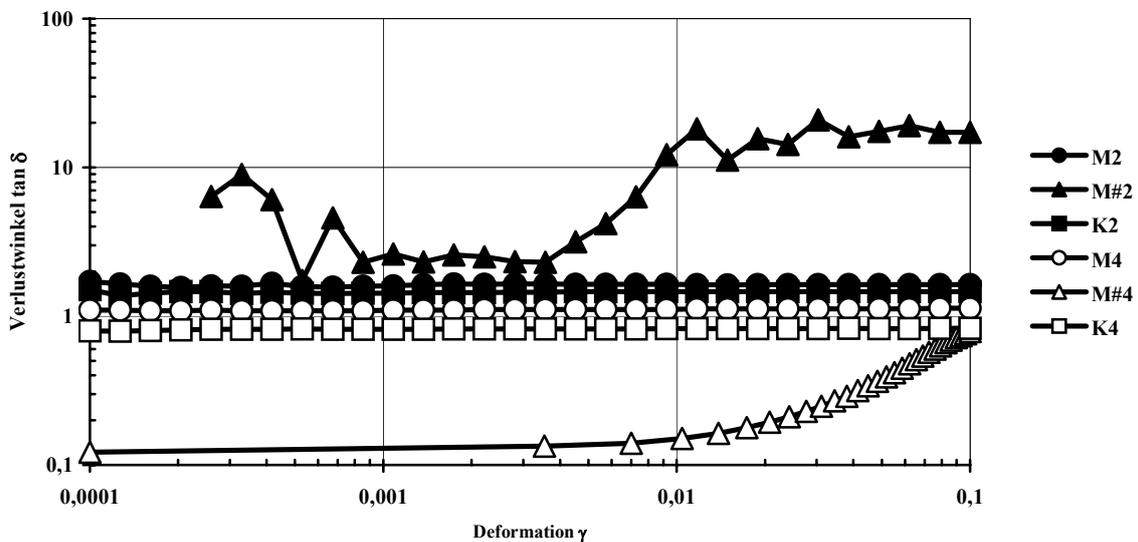


Abb. A4-7: Verlustwinkel $\tan \delta$ im Amplitudensweep der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 sowie 4 %.

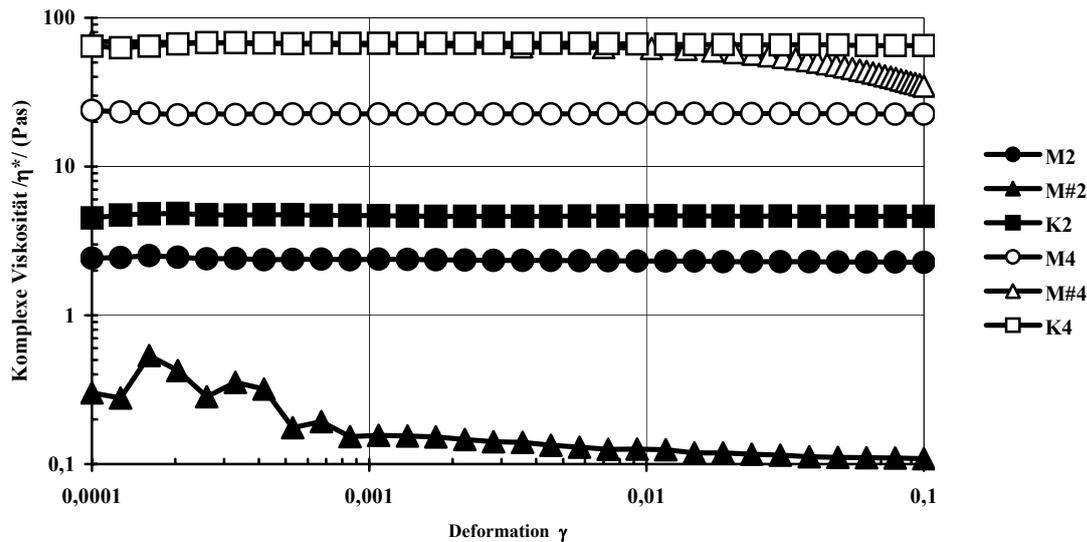


Abb. A4-8: Komplexe Viskosität $|\eta^*|$ im Amplitudensweep der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 sowie 4 %.

Tab. A4-3. Rheologische Parameter der isolierten β -Glucanpräparate, die aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K) isoliert wurden, in den Scherversuchen bei einer Konzentration von 2 sowie 4 %.

Probe	Modell	Fließgrenze	Konsistenzfaktor; Casson-Viskosität	Fließindex	Korrelationskoeffizient	SD	Thixotropiefläche	
		τ_0 (Pa)						K; η_{CA} (kg/ms^{2-n}); (Pas ⁿ)
M2	HB*	-0,086	4,472	0,698	0,999	0,19	1,6	
	CA	0,334	1,914	2	0,981	1,10	1,6	
	OW	-	4,339	0,713	0,999	0,25	1,6	
M#2	HB*	-0,021	0,117	0,947	0,999	0,01	0,1	
	CA*	(nicht auswertbar)						0,1
	OW	-	0,099	1,019	0,999	0,01	0,1	
K2	HB*	-0,215	9,640	0,662	0,999	0,43	1,5	
	CA	0,940	3,615	2	0,978	2,36	1,5	
	OW	-	9,324	0,677	0,999	0,56	1,5	
M4	HB	0,531	51,92	0,561	0,999	1,18	33,8	
	CA	11,18	12,18	2	0,980	9,21	33,8	
	OW	-	52,64	0,555	0,999	1,03	33,8	
M#4	HB	2,102	41,51	0,364	0,994	2,11	150,9	
	CA	20,84	3,308	2	0,959	5,60	150,9	
	OW	-	43,91	0,348	0,995	2,02	150,9	
K4	HB*	-30,54	194,74	0,407	0,999	3,13	2,7	
	CA*	(nicht auswertbar)						2,7
	OW	-	160,90	0,470	0,998	6,91	2,7	

HB = Herschel-Bulkley; CA = Casson; OW = Ostwald-de Waele.* nicht anwendbar (negative Fließgrenze).

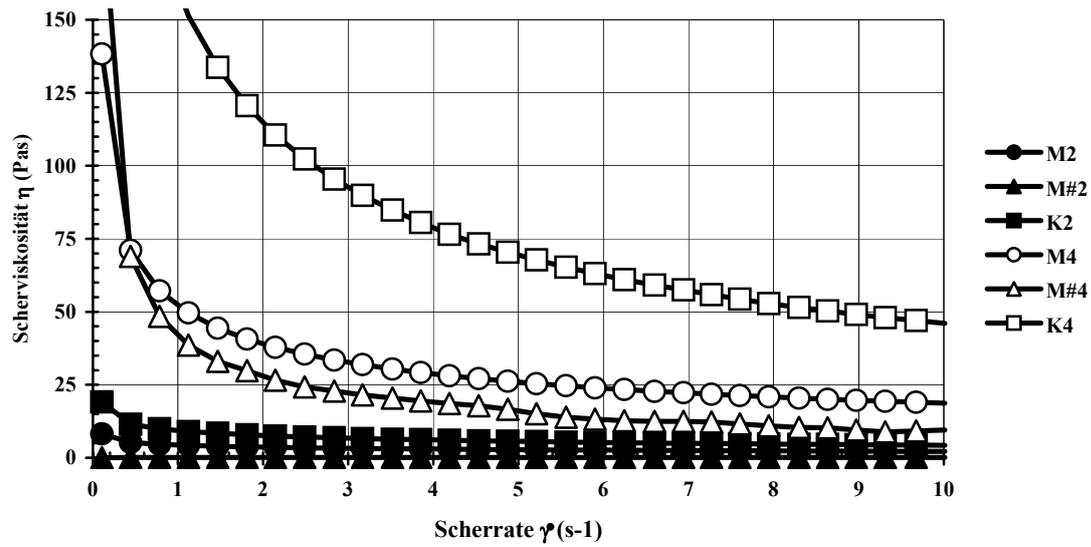


Abb. A4-9: Schergeschwindigkeitsabhängige Darstellung der scheinbaren Viskosität der isolierten β -Glucanpräparate, extrahiert aus extrudiertem Hafermehl (M), autoklaviertem Hafermehl (M#) und Haferkleie (K), bei einer Konzentration von 2 sowie 4 %.

Tab. A4-4: Konzentration an individuellen Gallensäuren (%) in Caecum- und Coloninhalten sowie in Faeces von Ratten bei Gabe der Kontrolldiät S oder der Versuchsdiäten in der 6. Versuchswoche.

Gruppe		TC	C	TDC	DC	KDC	KLC	TCDC	CDC	LC	α MC	β MC	HDC	UDC
S	Caecum	12,56	4,09	7,34	10,42	0,19	1,22	2,64	5,07	14,89	8,92	10,89	21,22	0,56
	Colon	2,50	7,56	1,29	15,43	1,06	5,34	0,33	3,16	17,68	12,84	11,73	19,47	1,62
	Faeces	0	7,58	0	15,77	2,15	6,48	0	2,53	20,63	13,04	10,62	19,53	1,68
M	Caecum	8,43	8,49	7,05	10,88	0,42	1,18	2,04	5,76	14,83	13,09	15,72	10,98	1,15
	Colon	1,84	9,93	1,06	14,54	1,79	3,90	0,27	6,34	15,84	14,27	14,57	12,79	2,86
	Faeces	0	9,34	0	14,34	2,61	6,14	0	4,76	17,64	15,72	14,10	12,21	3,13
MN	Caecum	9,76	10,17	5,91	9,22	0,38	0,67	1,72	5,30	15,35	9,58	9,73	21,01	1,20
	Colon	1,29	12,53	0,93	13,09	1,86	4,64	0,14	5,61	14,81	16,46	13,38	12,13	3,13
	Faeces	0	11,21	0	14,02	3,38	5,17	0	5,06	16,19	18,17	11,25	12,01	3,56
K	Caecum	10,02	7,12	6,07	11,09	0,91	0,51	1,90	5,67	13,50	13,64	15,00	13,62	0,95
	Colon	1,34	10,64	1,04	14,48	1,90	4,86	0,17	5,56	16,23	16,04	14,84	11,50	1,41
	Faeces	0	9,79	0	14,25	3,31	5,82	0	4,01	18,16	17,42	13,86	11,52	1,87
KN	Caecum	9,32	9,41	5,42	10,62	0,29	0,74	1,52	5,52	11,41	15,84	17,74	11,38	0,79
	Colon	0,71	13,56	0,38	14,05	2,11	3,28	0	6,29	14,69	17,22	15,30	10,28	2,14
	Faeces	0	11,78	0	14,24	3,56	4,82	0	5,54	15,71	18,83	13,95	8,69	2,88
M#	Caecum	11,32	6,09	5,37	11,48	0,55	0,90	1,22	6,14	12,76	12,87	16,98	13,20	1,14
	Colon	1,88	10,63	0,89	14,74	1,67	3,84	0	6,61	16,91	14,39	13,40	12,07	2,99
	Faeces	0	7,92	0	14,43	2,82	5,43	0	4,45	18,31	16,89	14,35	11,58	3,81

Mittelwerte, $n = 6$ bzw. 10 (Faeces).^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Tab A4-5: Konzentration an individuellen Gallensäuren ($\mu\text{mol/g}$ Trockenmasse) in Coloinhalten von Ratten bei Gabe der Kontrolldiät S oder der Versuchsdiäten in der 6. Versuchswoche.

Gruppe	TC	C	TDC	DC	KDC	KLC	TCDC	CDC	LC	αMC	βMC	HDC	UDC	Summe
S	0,304 $\pm 0,027$	0,917 $\pm 0,026$	0,156 $\pm 0,009$	1,867 $\pm 0,033$	0,129 $\pm 0,015$	0,646 $\pm 0,015$	0,040 $\pm 0,009$	0,383 $\pm 0,014$	2,143 $\pm 0,026$	1,556 $\pm 0,033$	1,422 $\pm 0,051$	2,361 $\pm 0,070$	0,196 $\pm 0,012$	12,119 $\pm 0,123$
M	0,260 $\pm 0,020^c$	1,406 $\pm 0,029^c$	0,156 $\pm 0,011$	2,076 $\pm 0,014^b$	0,258 $\pm 0,013^c$	0,555 $\pm 0,020^a$	0,038 $\pm 0,003$	0,894 $\pm 0,019^c$	2,222 $\pm 0,039$	2,001 $\pm 0,050^c$	2,081 $\pm 0,059^c$	1,803 $\pm 0,036^c$	0,409 $\pm 0,019^c$	14,118 $\pm 0,131^c$
MN	0,164 $\pm 0,015^b$	1,597 $\pm 0,017^c$	0,119 $\pm 0,013$	1,669 $\pm 0,025^b$	0,237 $\pm 0,013^c$	0,591 $\pm 0,010$	0,018 $\pm 0,004$	0,716 $\pm 0,012^c$	1,888 $\pm 0,021^c$	2,097 $\pm 0,032^c$	1,705 $\pm 0,028^b$	1,546 $\pm 0,035^c$	0,398 $\pm 0,015^c$	12,743 $\pm 0,062^a$
K	0,196 $\pm 0,019^c$	1,554 $\pm 0,057^c$	0,153 $\pm 0,014$	2,117 $\pm 0,045^c$	0,277 $\pm 0,015^c$	0,711 $\pm 0,030$	0,025 $\pm 0,008$	0,814 $\pm 0,039^c$	2,374 $\pm 0,045^c$	2,348 $\pm 0,072^c$	2,172 $\pm 0,080^c$	1,684 $\pm 0,065^c$	0,206 $\pm 0,018$	14,631 $\pm 0,132^c$
KN	0,105 $\pm 0,007^c$	2,010 $\pm 0,028^c$	0,056 $\pm 0,005^c$	2,082 $\pm 0,035^b$	0,314 $\pm 0,020^c$	0,486 $\pm 0,018^c$	0,000	0,932 $\pm 0,030^c$	2,176 $\pm 0,045$	2,553 $\pm 0,049^c$	2,268 $\pm 0,049^c$	1,524 $\pm 0,034^c$	0,316 $\pm 0,014^c$	14,821 $\pm 0,090^c$
M#	0,217 $\pm 0,012^a$	1,228 $\pm 0,035^c$	0,103 $\pm 0,011^a$	1,702 $\pm 0,032^a$	0,193 $\pm 0,015^c$	0,443 $\pm 0,016^c$	0,000	0,764 $\pm 0,024^c$	1,952 $\pm 0,045^a$	1,662 $\pm 0,037^a$	1,547 $\pm 0,036$	1,395 $\pm 0,059^c$	0,346 $\pm 0,020^c$	11,550 $\pm 0,107^a$

Mittelwerte \pm SEM, $n = 6$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Tab A4-6: Konzentration an individuellen Gallensäuren ($\mu\text{mol/g}$ Trockenmasse) in Faeces von Ratten bei Gabe der Kontrolldiät S oder der Versuchsdiäten in der 0. und 6. Versuchswoche.

Gruppe	Woche	C	DC	KDC	KLC	CDC	LC	αMC	βMC	HDC	UDC	Summe
S	0	1,016	1,917	0,437	0,764	0,267	2,563	1,601	1,221	2,474	0,221	12,481
		$\pm 0,025$	$\pm 0,026$	$\pm 0,014$	$\pm 0,014$	$\pm 0,011$	$\pm 0,056$	$\pm 0,025$	$\pm 0,022$	$\pm 0,031$	$\pm 0,0113$	$\pm 0,210$
	6	0,938	1,952	0,267	0,802	0,313	2,555	1,615	1,315	2,419	0,208	12,384
		$\pm 0,022^c$	$\pm 0,021^a$	$\pm 0,011$	$\pm 0,012$	$\pm 0,009$	$\pm 0,044$	$\pm 0,032$	$\pm 0,037$	$\pm 0,038$	$\pm 0,013$	$\pm 0,082^c$
M	0	0,936	1,899	0,271	0,751	0,233	2,498	1,619	1,169	2,423	0,315	12,113
		$\pm 0,028$	$\pm 0,036$	$\pm 0,026$	$\pm 0,017$	$\pm 0,016$	$\pm 0,050$	$\pm 0,039$	$\pm 0,040$	$\pm 0,047$	$\pm 0,013$	$\pm 0,093$
	6	1,372	2,110	0,385	0,903	0,700	2,593	2,312	2,073	1,797	0,461	14,706
		$\pm 0,024^c$	$\pm 0,045$	$\pm 0,022^c$	$\pm 0,024^b$	$\pm 0,021^c$	$\pm 0,049$	$\pm 0,037^c$	$\pm 0,038^c$	$\pm 0,045^c$	$\pm 0,017^c$	$\pm 0,109^c$
MN	0	0,992	1,959	0,397	0,738	0,236	2,584	1,599	1,239	2,549	0,243	12,536
		$\pm 0,023$	$\pm 0,030$	$\pm 0,014$	$\pm 0,013$	$\pm 0,012$	$\pm 0,019$	$\pm 0,027$	$\pm 0,023$	$\pm 0,025$	$\pm 0,021$	$\pm 0,051$
	6	1,556	1,945	0,468	0,717	0,701	2,245	2,522	1,561	1,667	0,494	13,875
		$\pm 0,044^c$	$\pm 0,049^c$	$\pm 0,023^c$	$\pm 0,020^a$	$\pm 0,012^c$	$\pm 0,041^c$	$\pm 0,049^c$	$\pm 0,043^b$	$\pm 0,043^c$	$\pm 0,020^c$	$\pm 0,140^c$
K	0	0,971	1,925	0,337	0,740	0,282	2,635	1,680	1,320	2,260	0,261	12,410
		$\pm 0,025$	$\pm 0,036$	$\pm 0,015$	$\pm 0,016$	$\pm 0,020$	$\pm 0,044$	$\pm 0,040$	$\pm 0,036$	$\pm 0,047$	$\pm 0,022$	$\pm 0,050$
	6	1,559	2,270	0,527	0,926	0,639	2,891	2,775	2,208	1,834	0,297	15,925
		$\pm 0,036^c$	$\pm 0,059^c$	$\pm 0,016^c$	$\pm 0,024^c$	$\pm 0,028^c$	$\pm 0,050^c$	$\pm 0,045^c$	$\pm 0,047^c$	$\pm 0,034^c$	$\pm 0,017^b$	$\pm 0,104^c$
KN	0	1,087	1,993	0,434	0,741	0,288	2,767	1,670	1,201	2,458	0,238	12,878
		$\pm 0,033$	$\pm 0,046$	$\pm 0,023$	$\pm 0,023$	$\pm 0,013$	$\pm 0,038$	$\pm 0,033$	$\pm 0,043$	$\pm 0,042$	$\pm 0,012$	$\pm 0,139$
	6	1,841	2,225	0,556	0,754	0,865	2,453	2,938	2,180	1,358	0,450	15,618
		$\pm 0,038^c$	$\pm 0,040$	$\pm 0,024^c$	$\pm 0,023$	$\pm 0,017^c$	$\pm 0,047$	$\pm 0,046^c$	$\pm 0,062^c$	$\pm 0,047^c$	$\pm 0,018^c$	$\pm 0,142^c$
M#	0	1,049	1,907	0,389	0,783	0,287	2,597	1,505	1,287	2,418	0,244	12,467
		$\pm 0,026$	$\pm 0,031$	$\pm 0,022$	$\pm 0,015$	$\pm 0,020$	$\pm 0,023$	$\pm 0,024$	$\pm 0,029$	$\pm 0,043$	$\pm 0,012$	$\pm 0,089$
	6	1,004	1,831	0,357	0,688	0,565	2,323	2,142	1,820	1,469	0,484	12,683
		$\pm 0,026$	$\pm 0,027$	$\pm 0,013^c$	$\pm 0,016^c$	$\pm 0,017^c$	$\pm 0,050^b$	$\pm 0,043^c$	$\pm 0,044^c$	$\pm 0,039^c$	$\pm 0,032^c$	$\pm 0,093^c$

Mittelwerte \pm SEM, $n = 6$. ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Tab. A4-7: Konzentration an neutralen Sterolen in Caecum- und Coloninhalten sowie in Faeces von Ratten bei Gabe der Kontrolldiät S oder der Versuchsdiäten in 6. Versuchswoche.

Gruppe		Cholesterol	Coprostanol	Coprostanon ($\mu\text{mol/g TM}$)	Cholestanon	Summe	Cholesterol- Metabolite (%)
S	Caecum	12,207 \pm 0,119	4,087 \pm 0,107	0,108 \pm 0,017	0	16,402 \pm 0,172	25,566 \pm 0,540
	Colon	7,905 \pm 0,110	10,289 \pm 0,170	0,422 \pm 0,025	0	18,616 \pm 0,266	57,531 \pm 0,281
	Faeces	6,965 \pm 0,107	12,740 \pm 0,060	0,925 \pm 0,030	0	20,630 \pm 0,131	66,255 \pm 0,312
M	Caecum	14,255 \pm 0,174 ^c	4,714 \pm 0,119 ^c	0,133 \pm 0,017	0	19,103 \pm 0,178 ^c	25,378 \pm 0,557
	Colon	10,030 \pm 0,117 ^c	14,088 \pm 0,134 ^c	0,731 \pm 0,044 ^a	0	24,925 \pm 0,135 ^c	59,737 \pm 0,491
	Faeces	8,369 \pm 0,107 ^c	16,573 \pm 0,518 ^c	1,334 \pm 0,045 ^c	0,107 \pm 0,006	26,382 \pm 0,580 ^c	68,171 \pm 0,664 ^a
MN	Caecum	13,911 \pm 0,059 ^c	4,467 \pm 0,062 [*]	0,155 \pm 0,036	0	18,533 \pm 0,126 ^c	24,933 \pm 0,365
	Colon	9,233 \pm 0,092 ^c	12,167 \pm 0,085 ^c	0,709 \pm 0,080 ^a	0	22,108 \pm 0,169 ^c	58,242 \pm 0,143
	Faeces	8,164 \pm 0,127 ^c	16,193 \pm 0,358 ^c	1,316 \pm 0,031 ^c	0,047 \pm 0,007	25,720 \pm 0,270 ^c	68,201 \pm 0,735 ^a
K	Caecum	14,842 \pm 0,451 ^c	5,238 \pm 0,132 ^c	0,290 \pm 0,025 ^c	0	20,370 \pm 0,418 ^c	27,203 \pm 0,885
	Colon	10,569 \pm 0,190 ^c	15,665 \pm 0,390 ^c	1,059 \pm 0,107 ^c	0	27,293 \pm 0,430 ^c	61,264 \pm 0,554 ^c
	Faeces	8,965 \pm 0,116 ^c	18,681 \pm 0,369 ^c	1,831 \pm 0,056 ^c	0,364 \pm 0,026	29,842 \pm 0,402 ^c	69,924 \pm 0,463 ^c
KN	Caecum	14,255 \pm 0,363 ^c	4,714 \pm 0,100 ^c	0,133 \pm 0,015 ^c	0	19,103 \pm 0,447 ^c	25,378 \pm 0,374
	Colon	10,761 \pm 0,293 ^c	15,443 \pm 0,216 ^c	0,927 \pm 0,054 ^c	0	27,131 \pm 0,327 ^c	60,361 \pm 0,759 ^b
	Faeces	8,459 \pm 0,082 ^c	17,929 \pm 0,418 ^c	1,661 \pm 0,079 ^c	0,393 \pm 0,039	28,442 \pm 0,480 ^c	70,208 \pm 0,393 ^c
M#	Caecum	12,738 \pm 0,162	4,067 \pm 0,107	0,106 \pm 0,027	0	16,911 \pm 0,219	24,669 \pm 0,471
	Colon	7,938 \pm 0,149	10,675 \pm 0,155	0,502 \pm 0,035	0	19,114 \pm 0,113	58,473 \pm 0,733
	Faeces	6,982 \pm 0,082	12,901 \pm 0,182	1,135 \pm 0,046 ^c	0,073 \pm 0,005	21,091 \pm 0,203	66,882 \pm 0,370

Mittelwerte, $n = 6$ bzw. 10 (Faeces). ^{*} $P=0,093$; ^a $P < 0,05$, ^b $P < 0,005$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

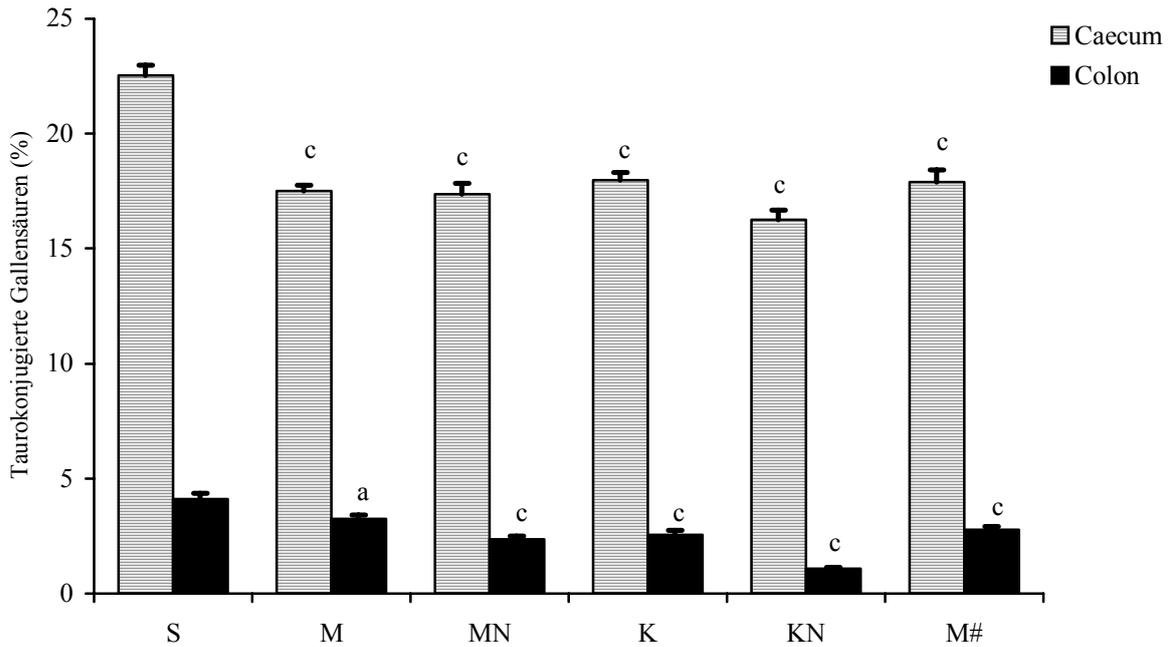


Abb. A4-10: Prozentualer Anteil an taurokonjugierten Gallensäuren in Caecum- und Coloninhalten der Kontrollgruppe S sowie der Versuchsgruppen in der 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 6$. ^a $P < 0,05$, ^a $P < 0,05$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

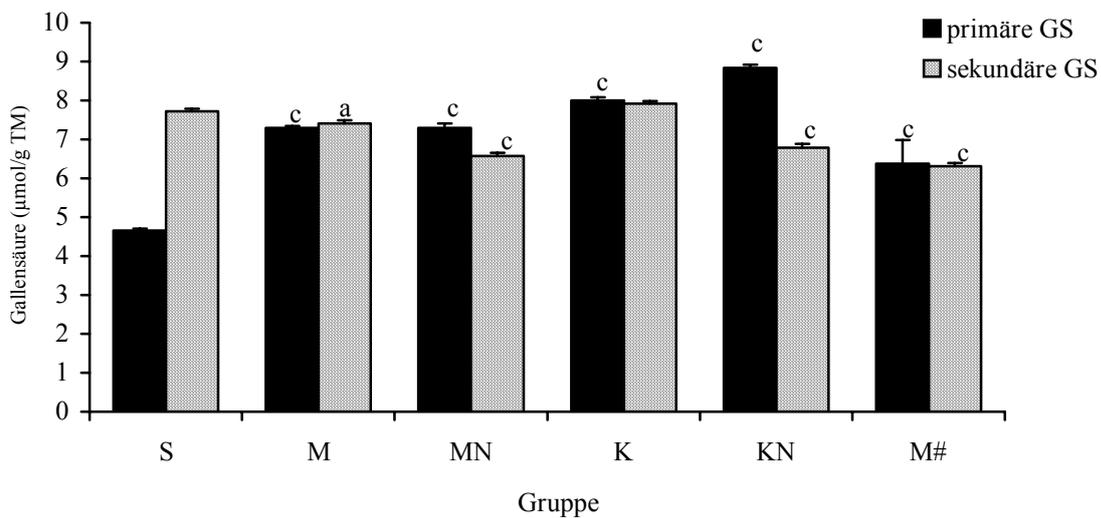


Abb. A4-11: Konzentrationen an primären und sekundären Gallensäuren in Faeces der Kontrollgruppe S sowie der Versuchsgruppen in der 6. Woche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^a $P < 0,05$, ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

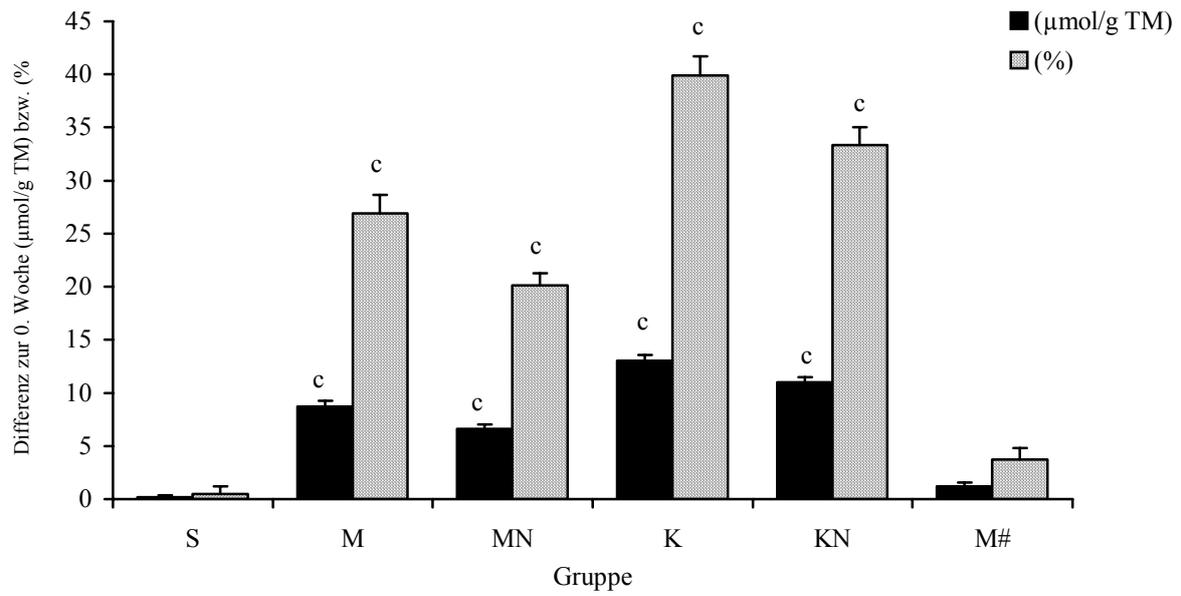


Abb. A4-12: Änderung der Gesamtsteroiden in Faeces bei der Kontrollgruppe S sowie bei den Versuchsgruppen in der 6. Woche im Vergleich zur 0. Woche, dargestellt in $\mu\text{mol/g TM}$ sowie in %. Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$. ^c $P < 0,001$ gegenüber Kontrollgruppe S.

Tab. A4-8: Typisches Ernährungsprotokoll eines Probanden

	Zeit	Auflistung der Nahrung	
<i>0. Woche – 1. Probennahme</i>			
Vortag	6:30	250 ml Kaffee	
	8:45	1 Brötchen mit Nutella, Marmelade, 300 ml grüner Tee	
	13:00	3 Scheiben Brot, 4 Scheiben Gurke, Tomate und Käse, 2 Scheiben Kochschinken, 4 Blätter Salat	
	15:30	300 ml schwarzer Tee mit Milch, 1 Apfel	
	16:00	1 Twix, 100 ml grüner Tee	
	16:45	Tasse Kaffee	
	17:45	2 Teller Spaghetti Bolognese (Hackfleisch, Zwiebeln, Olivenöl, Oregano, Salz, Pfeffer, Tomatensauce), 100 ml Multivitaminsaft	
	22:00	300 ml Wasser	
	1. Probennahme	6:30	200 ml Wasser
		9:45	150 ml Kaffee mit Vollmilch, 1 Teller Müsli mit Milch und 250 g Naturjoghurt (3,5 % Fett)
13:00		Vollkornbrot (2 Scheiben) mit Salami und Käse	
15:00		300 ml grüner Tee, 1 Stück Käsekuchen	
18:15		200 ml Wasser	
19:00		2 Scheiben Vollkornbrot mit Butter, 3 Scheiben Schinken, 4 Cocktailtomaten, 1 Scheibe Toast, Fleischsalat, 400 ml Saftschorle	
<i>2. Woche – 2. Probennahme</i>			
Vortag	6:30	250 ml Kaffee, 33 g Extrudat mit 40 g Apfel und 100 ml Milch	
	13:00	Mischbrot mit gekochten Schinken, Käse, Salatblatt, Gurkenscheiben	
	15:30		
	17:00	400 ml grüner Tee mit Milch, 1 Orange, 33 g Extrudat mit 50 ml Milch	
	18:15	1 Tasse schwarzer Tee, 33 g Extrudat	
	22:00	Chinapfanne mit Hähnchenbrust (Tomaten, Kohl, Lauch, Vollkornnudeln), 600 ml Saftschorle	
		400 ml Wasser	
	2. Probennahme	6:00	300 ml Wasser
		9:15	33 g Extrudat mit 150 ml Milch, 1 Stück Kranzkuchen, 1 Orange, 300 ml Kaffee mit Milch
		11:15	200 ml grüner Tee
14:00		Jagdwurst, Reis, Tomatensalat, 200 ml schwarzer Tee mit Milch	
18:15		1 Apfel, 1 Orange, 67 g Extrudat mit Honig und Milch	
19:00		200 ml schwarzer Tee	
19:30		2 Scheiben Brot, 2 Scheiben Toast, Käse, 500 ml Saftschorle	
21:00		0,5 l Mineralwasser	

Tab. A4-8: Typisches Ernährungsprotokoll eines Probanden (Fortsetzung)

	Zeit	Auflistung der Nahrung
<i>4. Woche – 3. Probennahme</i>		
Vortag	7:30	250 ml Kaffee mit Milch, 20 g Extrudat mit Zucker und Zimt
	10:00	300 ml Grüner Tee
	12:00	1 Käsebrötchen, 30 g Extrudat, Joghurt mit Müsli
	12:30	500 ml Mineralwasser
	13:00	50 g Extrudat mit Milch, Bohneneintopf (ca. 300 g)
	14:00	3 Äpfel, 300 ml schwarzer Tee
	15:00	1 Stück Mohnkuchen, 1 Tasse schwarzer Tee
	16:00	1 Käse-Schinkenbaguette
	22:00	400 ml Wasser
	3. Probenname	6:45
10:00		Joghurt mit Müsli, 25 g Extrudat, 200 ml Früchtetee
11:00		2 Tassen grüner Tee (400 ml)
12:45		Vollkornbrot mit Salami und Käse, 2 Äpfel, 400 ml Orangensaft
14:00		50 g Extrudat mit 150 ml Vollmilch
14:30		200 ml Mineralwasser, 1 Orange
18:15		25 g Extrudat, 1 Mohnschnecke, 300 ml Apfelsaftschorle
<i>6. Woche – 4. Probeabnahme</i>		
Vortag	7:00	250 ml Kaffee, 2 Vollkorbrötchen mit Butter, Honig
	10:00	300 ml Früchtetee
	12:00	Sauerkraut, Kartoffeln, Knacker, 1 Becher grüner Tee (300 ml)
	15:45	1 Blutorange
	16:45	100 ml schwarzer Tee, 1 Schokokuchen
	17:30	100 ml grüner Tee
	18:30	Spritzkuchen, 200 ml Kräutertee
	19:30	100 ml schwarzer Tee, Obstsalat
	4. Probennahme	6:30
9:30		300 ml Kaffee mit Vollmilch, 2 Scheiben Brot, Butter, Schinken
10:40		1 Scheibe Mischbrot mit Bierschinken, 1 Banane
14:00		Sauerkrauteintopf, 200 ml schwarzer Tee
17:00		200 ml Mineralwasser, 1 Orange
20:00		Brot mit Wurst, 200 ml Saftschorle

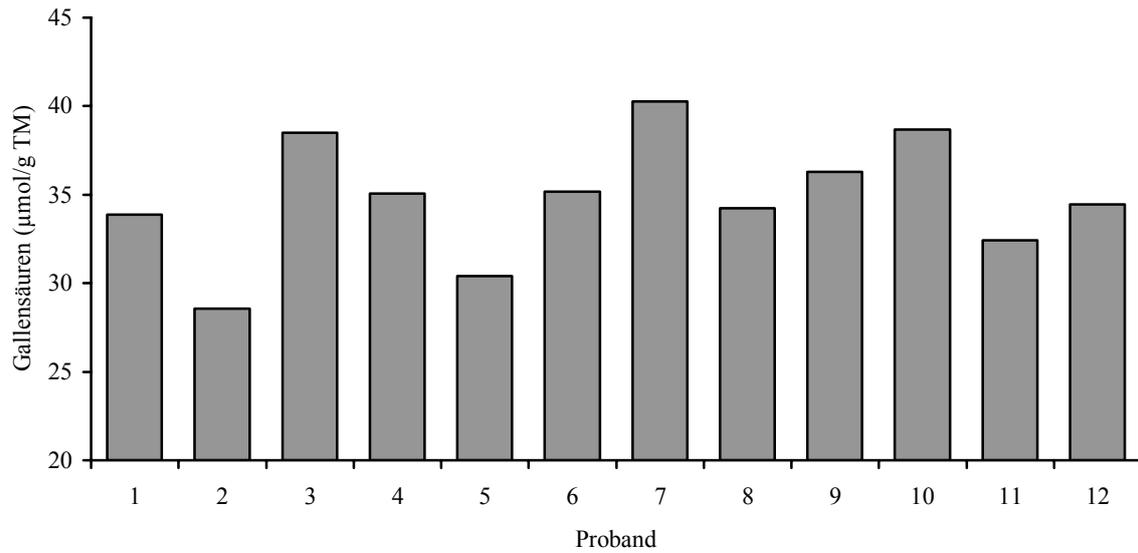


Abb. A4-13: Variation in der Konzentration an Gesamt-Gallensäuren in Faeces der 12 Probanden in der 4. Versuchswoche.

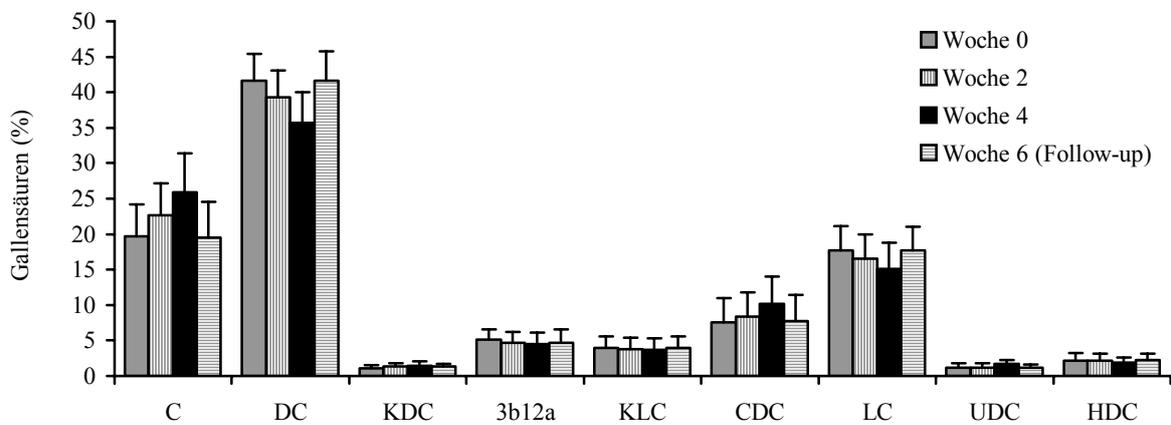


Abb. A4-14: Prozentuale Änderungen der einzelnen Gallensäuren von der 0. bis zur 6. Woche (Durchschnittswerte aller Probanden).

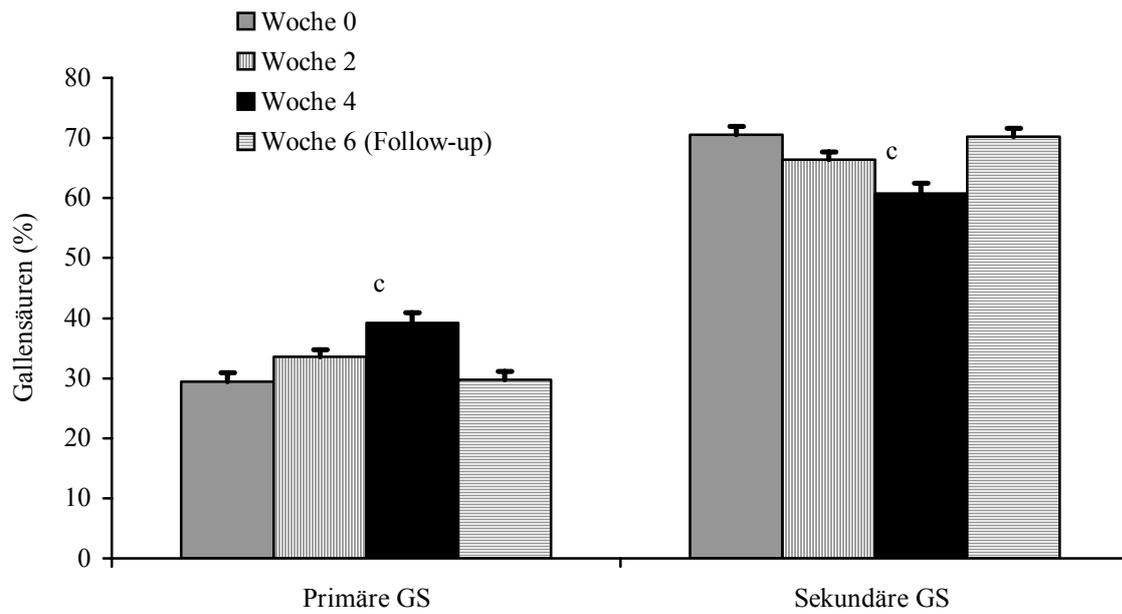


Abb. A4-15: Prozentuale Änderung des Anteils an primären und sekundären GS in Faeces von der 0. bis zur 6. Versuchswoche. Mittelwerte \pm SEM, $n = 12$. ^c $P < 0,001$ gegenüber 0. Woche.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Die Dissertation wurde an keiner anderen Hochschule zur Begutachtung vorgelegt.

Berlin, den

Lebenslauf in Stichworten

Persönliche Informationen:

Name: Barbora Drzikova
Geburtsdatum: 13.04.1977
Geburtsort: Partizanske / Slowakische Republik
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: slowakisch

Schulbildung:

09/1983 – 06/1991 Grundschule, Prievidza / Slowakische Republik
09/1991 – 05/1995 Abitur am Gymnasium V.B. Nedozersky, Prievidza / Slowakei

Studium:

09/1995 – 06/2000 Studium der Ernährungswissenschaft an der Slowakischen Landwirtschaftlichen Universität in Nitra / Slowakei
- Thema der Diplomarbeit: Ballaststoffe in der menschlichen Ernährung
Abschluss: Diplom - Ernährungswissenschaftlerin

02/1997 – 02/2000 Slowakische Landwirtschaftliche Universität in Nitra /Slowakei,
Ökonomische Fakultät, Abteilung für Schulpädagogik
Abschluss: Lehrerin für Berufsausbildung im Fachbereich
„Ernährung“.

09/2000 - 02/2002 Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Slowakischen Landwirtschaftlichen Universität in Nitra/Slowakei, Lehrstuhl für Ernährung

03/2001 - 08/2001 Fachhochschule Fulda, Sokrates-Erasmus - Stipendiatin, Fachbereich Haushalt und Ernährung

09/2001 - 06/2005 Doktorandin am Deutschen Institut für Ernährungsforschung (DIfE), Potsdam-Rehbrücke

Berlin, den

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Dr. G. Dongowski für die Betreuung meiner Doktorarbeit, stete Diskussionsbereitschaft und seine Unterstützung bei allen durchgeführten Arbeiten dieses Projektes.

Prof. Zunft danke ich für seine Bereitschaft als betreuender Hochschulmentor zu fungieren. Ich möchte mich ganz herzlich bei allen Mitarbeitern der Abteilung PML des DIfE bedanken, die mich freundlich aufnahmen und unterstützten.

Frau Dr. U. Lehmann, Frau Dr. S. Florian, Frau Dr. M. Bauer-Marinovic und Frau Dr. S. Sembries danke ich für ihre Diskussionen, Anregungen und Lebenshilfen, die weit über die Arbeit hinausgingen. Ein großer Dank an Frau Richter, Frau König, Frau Niehaus und Herrn Maischack für ihre tatkräftige Unterstützung und Aufmunterungen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Den Kooperationspartner Herrn Dr. E. Gebhardt und Frau A. Habel danke ich für die Bereitstellung der Haferproben, sowie für ihre fachlichen Anregungen.

Großer Dank gebührt allen Probanden, die an den Studien teilnahmen. Frau Dr. K. Müller-Schmehl danke ich herzlich für ihr Engagement bei den Blutabnahmen.

Prof. M. Blaut danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskripts und für die Möglichkeit in der Abteilung GAMI des DIfE diese Arbeit zu beenden.

Bei Frau E. Thom und Frau I. Thomas und den Mitarbeitern des MRL des DIfE möchte ich mich für die kooperative Zusammenarbeit während der Tierexperimente bedanken.

Für ihre Geduld, ihr Verständnis und viele kleine und große Hilfeleistungen danke ich meinen Eltern, meinem Bruder und meinen Freunden.

Ebenso sei allen denen ein Dankeschön ausgesprochen, die nicht namentlich Erwähnung fanden, aber zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Das Forschungsvorhaben wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Arbeit/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert. Projekt-Nr.: AiF-FV 12716 BR.