

A. Täufel  
W. Lüder  
J. Proll

## **$\alpha$ -Amylase-Inhibitoren und lösliche Ballaststoffe aus Roggen: Partielle Reinigung und Einfluß auf die postprandiale Glykämie**

### **$\alpha$ -Amylase inhibitors and soluble dietary fibre components from rye: partial purification and influence on postprandial glycemia**

**Zusammenfassung** Aus Roggencmehl und Roggenkleie der Sorte „Clou“ werden der Protein-Inhibitor der  $\alpha$ -Amylase und das lösliche Arabinoxylan isoliert. Die Anreicherung des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitors erfolgt durch Extraktion von Roggencmehl in wässriger  $\text{CaCl}_2$ -Lösung ( $2 \times 10^{-3}\text{M}$ ) unter Zusatz des Hemicellulasepräparates Veron HE ( $2 \text{ g}/100 \text{ g}$  Mehl), anschließende Dialyse und Lyophilisierung (Präparat I). Durch weitere Ammonsulfatfraktionierung und Aufarbeitung der Fraktion 20–50 % Sättigung wird Präparat II gewonnen. Das Arabinoxylanpräparat wird durch Extraktion von Roggenkleie in 80 % Ethanol bei 80 °C, Zentri-

fugation, wässrige Extraktion des Sedimentes, Dialyse und Lyophilisation gewonnen (Präparat I). Aus dem Extrakt wird Präparat II durch Ethanolfraktionierung und Aufarbeitung der Fraktion 20–50 % isoliert. Das durch Ammonsulfatfraktionierung gereinigte  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor-Präparat und das durch Ethanolfraktionierung angereicherte Arabinoxylanpräparat werden mit einem Testfutter, bestehend aus Weizenstärke und Casein, an diabetische und stoffwechselgesunde Ratten appliziert und im Blut der postprandiale Glucoseanstieg bestimmt. Es wird nachgewiesen, daß dieser sowohl durch den Inhibitor als auch durch das lösliche Arabinoxylan des Roggens im Vergleich zur Kontrolle nicht beeinflußt wird. Dagegen führt der  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor des Weizens zu einer signifikanten Verminderung des Glucoseanstiegs. Nach Verzehr einer Testmahlzeit mit zugesetztem  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor aus Roggen durch Stoffwechselgesunde und Typ-II-Diabetiker kann ebenfalls keine Veränderung der Blutglucosewerte nachgewiesen werden. Somit läßt sich die Senkung des Glucoseanstiegs durch das lösliche  $\beta$ -Glucan aus Hafer mit dem löslichen Arabinoxylan des Roggens nicht bestätigen. Daraus ergibt sich sowohl beim  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor als auch beim löslichen Pentosan/Glucan die Notwendigkeit, die Wirksamkeit bei jeder Getreideart zu prüfen.

Eingegangen: 8. August 1995  
Akzeptiert: 4. März 1996

Gefördert vom Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie, 53111 Bonn, FKZ: 07 NBL 05

Dr. A. Täufel (✉) · W. Lüder · J. Proll  
Abteilung Präventiv-medizinische  
Lebensmittelforschung  
Deutsches Institut für Ernährungsforschung  
Arthur-Scheunert-Allee 114/116  
14558 Bergholz-Rehbrücke

**Summary** The protein inhibitor of the  $\alpha$ -amylase (D-type) and the soluble arabinoxylan of rye (Var. Clou) were isolated from flour and bran, respectively. The isolation of the  $\alpha$ -amylase inhibitor involves the extraction of rye flour in aqueous  $\text{CaCl}_2$ -solution ( $2 \times 10^{-3}\text{M}$ ) containing the hemicellulase preparation Veron HE ( $2 \text{ g}/100 \text{ g}$  flour), dialysis and lyophilization (preparation I) and further fractionation with ammonium sulfate, using the fraction 20–50 % for isolation (preparation II). The arabinoxylan isolation is carried out using extraction of rye bran in 80 % ethanol ( $80^\circ\text{C}$ ), centrifugation, aqueous extraction of the sediment, dialysis and lyophilization (preparation I). The further purification using the precipitate of the fraction 20–50 % leads to preparation II. The  $\alpha$ -amylase inhibitor preparation II and the arabinoxylan preparation II were applied in a diet containing wheat starch and casein and fed to diabetic and healthy rats (Levis and Wistar). The postprandial increase of glucose was determined. It was detected that the postprandial increase of glucose is influenced neither by the  $\alpha$ -amylase inhibitor nor by the soluble arabinoxylan in comparison to the control experiments. However, the  $\alpha$ -amylase inhibitor of wheat significantly decreases the postprandial increase of

glucose. The application of a test meal with  $\alpha$ -amylase inhibitor of rye to health and diabetic of type-II-volunteers showed no variation of the blood glucose values. The reduction of the increase of glucose by the soluble  $\beta$ -glucan of oat cannot be confirmed for the soluble

arabinoxylan of rye. We conclude that the effect of the  $\alpha$ -amylase inhibitor as well as the soluble pentosan or glucan has to be examined for each cereal species.

**Schlüsselwörter**  $\alpha$ -Amylase Inhibitoren – lösliches Arabinoxylan –

Roggen – postprandiale Glykämie – diabetische Ratten – Typ-II-Diabetiker

**Key words**  $\alpha$ -amylase-inhibitors – soluble arabinoxylan – rye – postprandial glycemia – diabetic rats – type-II-diabetics

## Einleitung

In Weizen, Gerste und Roggen sind zwei Proteine mit Inhibitorwirkung gegenüber  $\alpha$ -Amylase isoliert und charakterisiert worden. Ein  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor hemmt tierische- und Human- $\alpha$ -Amylase (D-Typ) (1), ein weiterer inhibiert spezifisch die getreideeigene  $\alpha$ -Amylase (R-Typ) (2–5). Der  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor (D-Typ) des Roggens und Weizens erweist sich als relativ temperatur- und pH-stabil, derjenige der Gerste als relativ temperatur- und pH-labil (3, 6, 7). Der D-Typ des Roggens ist sowohl im Endosperm als auch in den ballaststoffreichen Fraktionen der drei Getreidearten, insbesondere in der Keimfraktion, vorhanden. Der R-Typ findet sich vorzugsweise in der Aleuronschicht (8).

Die  $\alpha$ -Amylase-Inhibitoren und die löslichen Ballaststoffe können auf die ernährungsphysiologische Verwertung von Getreideprodukten, insbesondere auf die Glucoseverfügbarkeit aus Stärke und ihre energetische Verwertung, Einfluß nehmen. Nach Sawa (9) ist mit dem aus Weizen gewonnenen Amylase-Inhibitor eine Senkung der postprandialen Blutglucosewerte von mit Streptozotocin induzierten diabetischen Ratten nachgewiesen worden. Bezuglich des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitors (D-Typ) des Roggens sind bisher Wirkungen auf den postprandialen Glucoseanstieg nicht untersucht worden. Bekannt ist aber die Verminderung des postprandialen Glucoseanstiegs im Blut durch mikrobielle  $\alpha$ -Amylase-Inhibitoren, die primär die mucosalen Carbohydrazasen hemmen. Ihre Charakterisierung hat letztlich zum Präparat Acarbose geführt, das zur Typ-II-Diabetes-Therapie eingesetzt wird (20). Da die Supplementierung der Nahrung mit Acarbose auch zu subjektiven Beeinträchtigungen der Verträglichkeit führen kann, ist von Interesse, ob auch die  $\alpha$ -Amylase-Inhibitoren des Getreides als potentielle Einflußfaktoren auf die Stärkeverdauung geeignet sind.

Getreide enthält ferner wasserunlösliche und wasserlösliche Ballaststoffe in unterschiedlichen Anteilen und Strukturen (10). Im Roggen ist ein höherer Anteil an Pentosanen (5,4 %) als im Weizen vorhanden (4,3 %) (11). Lösliche Pentosane sind in Kleie und Mehl unterschiedlich verteilt, etwa 1,5 % bzw. 2,4 % bei Roggen und 0,28 bzw. 0,5 % bei Weizen. Haferkleie weist einen höheren Anteil an Gesamt- (etwa 20 %) und an löslichen

Ballaststoffen (9,2 %) auf. Sie sind wie auch bei Weizen aus  $\beta$ -1-3-Glucanen zusammengesetzt, während Roggen überwiegend aus  $\beta$ -1-4-Xylanketten mit an sie gebundener Arabinose besteht. Das lösliche  $\beta$ -Glucan des Hafers hat bei Typ-II-Diabetikern eine Verminderung des postprandialen Blutglucoseanstiegs zur Folge (12). Eine entsprechende Wirkung des löslichen Arabinoxylans des Roggens ist bisher nicht geprüft worden. Unsere Untersuchungen sollen daher klären, ob der  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor (D-Typ) bzw. das lösliche Arabinoxylan aus Roggen den postprandialen Glucoseanstieg nach einer Stärkegabe beeinflußt.

## Material und Methoden

### Getreideproben

Als Ausgangsmaterial dient Roggen der Sorte „Clou“ (Ernte 1992), der in die Mahlprodukte Schrotmehl, Mehl, Grießkleie und Schalenkleie fraktioniert wird. Zur Gewinnung des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitors (D-Typ) wird das Mehl herangezogen, da sich der D-Typ vorzugsweise im Endosperm befindet. Für die Isolierung des löslichen Arabinoxylans wird trotz seines gegenüber dem Mehl niedrigeren Anteils von Schalenkleie ausgegangen. Seine Isolierung aus Mehl ist infolge der hohen Viskosität des wässrigen Extraktes erschwert.

### Gewinnung des $\alpha$ -Amylase-Inhibitors (D-Typ)

Die Anreicherung gliedert sich in zwei Aufarbeitungsstufen. In der ersten Stufe werden 100 g Mehl mit 500 ml Calciumchloridlösung ( $2 \times 10^{-3}$  M) unter Zusatz von 5 g Veron HE (ein Glucan und Pentosan abbauendes Enzympräparat, Röhm AG., Darmstadt) extrahiert. Nach der Inkubation (60 min bei 20 °C) erfolgt die Inaktivierung der im Extrakt vorhandenen Amylase und der zugesetzten Glucanase durch Erhitzen (15 min bei 80 °C). Anschließend wird zentrifugiert und gegen Wasser 42 Std. bei 4 °C dialysiert. Das Dialysat wird nach nochmaligem Zentrifugieren lyophilisiert (Präparat I). Dieses Präparat wird für die Humanversuche an Stoffwechselgesunden und Typ-II-Diabetikern angewendet.

Zur Reinigung des nach der Hitzeinaktivierung erhaltenen Überstandes erfolgt eine Fraktionierung mit Ammoniumsulfat. Es hat sich gezeigt, daß durch den vorausgegangenen Abbau der Roggenpentosane in niedermolekulare, lösliche Verbindungen die Auf trennung in die Fraktionen 0–20 %, 20–50 % und 50–70 % Sättigung günstig beeinflußt wird. Der mit 20 bis 50 %iger Ammoniumsulfatsättigung erhaltene Niederschlag wird dialysiert, zentrifugiert und lyophilisiert (Präparat II). Mit diesem Präparat werden die Versuche an stoffwechselgesunden und diabetischen Ratten durchgeführt. Als  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor aus Weizen wird ein Präparat der Firma Sigma, Deisenhofen/München verwendet.

#### Bestimmung der $\alpha$ -Amylase-Inhibitor-Aktivität

Sie erfolgt nach Behnke et al. (13). Durch Modifizierung der Inkubationsbedingungen können die Inhibitor-Aktivitäten von beiden Amylase-Inhibitor-Typen parallel bestimmt werden (14). Die Präinkubationsdauer von Amylase-Inhibitor (D-Typ) und Schweine-Pankreas- $\alpha$ -Amylase (Boehringer, Mannheim) beträgt 30 min und erfolgt bei pH 8,0 und 35 °C.

#### Gewinnung des löslichen Arabinoxylans

Die Herstellung des löslichen Arabinoxylans erfolgt ebenfalls in zwei Aufarbeitungsstufen. 250 g Schalenkleie werden zur Inaktivierung der Enzyme 2 x mit je 700 ml 80 %igem Ethanol 30 min am Rückfluß gekocht und der Rückstand 30 min mit 1 000 ml Wasser bei 30 °C extrahiert. Nach dem Zentrifugieren wird der Rückstand nochmals extrahiert, die vereinigten Extrakte über Kieselgur (Celite 445) abgesaugt und bei 40 °C auf ca. 500 ml konzentriert. Dem Konzentrat wird zum Stärke- und Proteinabbau mikrobielle  $\alpha$ -Amylase (26,5 mg) und Trypsin (26,1 mg) zugesetzt und dieses 6 h bei 40 °C inkubiert. Nach der Enzymolyse wird die Ballaststofflösung bei 4 °C gegen Wasser dialysiert, das Dialysat zur Inaktivierung der zugesetzten Enzyme 30 min bei 100 °C gehalten und anschließend durch Kieselgur (Celite 445) abgesaugt. Die klare Lösung wird dialysiert und lyophilisiert (Arabinoxylan I).

In der 2. Anreicherungsstufe werden 600 ml der klaren Ballaststofflösung auf 60 °C vortemperiert und zur Fällung des Arabinoxylans mit 96 %igem Ethanol (60 °C) auf 80 % Sättigung eingestellt. Die Fällung verbleibt 1 h bei 60 °C, 1 h bei Zimmertemperatur und schließlich 20 h bei 4 °C. Nach Zentrifugation wird das Präzipitat in wenig dest. Wasser aufgenommen und lyophilisiert (Arabinoxylan II). Dieses Präparat wird für die Versuche an stoffwechselgesunden und diabetischen Ratten angewendet. Die Bestimmung des löslichen Arabinoxylans erfolgt gravimetrisch/enzymatisch (22) bzw. mittels Orcinfärbung (23).

#### Tierversuche

Die Versuche werden mit streptozotocinbehandelten (30 mg/kg Körpermasse i.p. appliziert) diabetischen Ratten (Lewis) und gesunden Tieren (Wistar) durchgeführt. Die Haltung der Tiere vor dem Versuch erfolgt zu zweit je Versuchstierkasten mit einem Haltungsfutter (Altromin 1320) und Wasser ad libitum. Die diabetischen Tiere weisen im nicht nüchternen Zustand einen Blutglucosespiegel von  $18 \pm 2$  mmol/l auf. Für die Untersuchung erhalten die Tiere nach 16stündiger Nahrungskarenz eine Grundmahlzeit von 0,5 g Weizenstärke + 0,15 g Casein auf 5,0 ml Wasser. Ihr wird entweder kein Zusatz (Kontrolle) oder ein Zusatz von 200 IE  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor aus Roggen bzw. Weizen oder 0,1 g Arabinoxylan (Präparat II) zugegeben. Stärke und Casein werden ca. 10 min bei 75 °C vorgequollen, abgekühlt, der Inhibitor bzw. das Arabinoxylan zugemischt und alles in dickflüssiger Konsistenz per Schlundsonde verabreicht. Die Blutglucose wird aus dem Vollblut der Schwanzvene postprandial über den Zeitraum von 0–180 min mittels der Glucoseoxidase-Methode im Hämolsat am COBAS-MIRA/S (Hoffmann La Roche) bestimmt. Je Versuchsgruppe kommen 5 Tiere zur Anwendung.

#### Untersuchungen an Stoffwechselgesunden und Typ-II-Diabetikern mit $\alpha$ -Amylase-Inhibitor aus Roggen

Die Probanden (Stoffwechselgesunde und diätetisch eingestellte Typ-II-Diabetiker ohne schwerwiegende Begleiterkrankungen) erhalten eine isoenergetische und in den Hauptnährstoffgruppen identische Testmahlzeit von 275 kcal (1 151 kJ) mit und ohne Inhibitorzusatz. Die Mahlzeit besteht aus 30 g Maisstärke, 100 g Quark (40 % Fett i.T.), 100 ml Wasser und dem Inhibitor (Präparat I) mit 4 000, 8 000 oder 12 000 IE. Die vorhandenen Begleitstoffe werden in die Nährstoffbilanz einbezogen. Postprandial wird die Glykämie im Kapillarblut durch Bestimmung des Anstiegs der Blutglucose innerhalb von 120 bzw. 180 min erfaßt. Weiterhin wird das Präparat Acarbose (Bayer AG, Leverkusen), ein mikrobiell gewonnenes Pseudotetrasaccharid, als Glucosidase- und  $\alpha$ -Amylasehemmer eingesetzt. Die Bestimmung der Inhibitoraktivität (8 000 IE je Proband) erfolgt unter analogen Bedingungen, wie die  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor-Aktivitäten der Roggen- und des Weizenpräparates. Angegeben werden Mittelwerte und Standardabweichungen. Signifikanzen werden mit dem t-Test nach Student geprüft.

#### Ergebnisse

##### Gewinnung der $\alpha$ -Amylase-Inhibitor-Präparate aus Roggen

Tabelle 1 faßt die Anreicherung der  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor-Aktivität (D-Typ) für die beiden Aufarbeitungsstufen

**Tabelle 1** Präparative Anreicherung des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitors (D-Typ) aus Roggenmehl

Präparat	Einsatzmenge bzw. Ausbeute (g)	Inhibitor-Aktivität <sup>3)</sup> (IE/g Präp.)	Faktor der Anreicherung	Protein- gehalt <sup>4)</sup> (%)	Inhibitor-Aktivität <sup>3)</sup> (IE/g Protein)	Faktor der Anreicherung
Roggenmehl	100	72,6		6	1 210	
Inhibitor-Präparat I	6,5 ± 0,6 <sup>1)</sup>	860	11,8	24,1	3 583	3,0
Inhibitor-Präparat II	0,22 ± 0,02 <sup>2)</sup>	8 286	114	81,9	10 105	8,4

Präparat I: ohne Ammoniumsulfatfraktionierung

Präparat II: mit Ammoniumsulfatfraktionierung

<sup>1)</sup> n = 13; <sup>2)</sup> n = 16; <sup>3)</sup> s = 7,9 % (n = 12); <sup>4)</sup> Mittelwert von 3 Einzelbestimmungen

zusammen. Aus Roggenmehl mit einer  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor-Aktivität von 72,6 IE/g erhält man ohne Ammoniumsulfatfällung das Präparat I mit einer Inhibitoraktivität von 860 IE/g, entsprechend einem Anreicherungsfaktor von etwa 12, bezogen auf das Präparat. Unter Bezugnahme auf den Proteingehalt resultieren 3 583 IE/g (Faktor 3). Die nachgeschaltete Fraktionierung mit Ammoniumsulfat und die Aufarbeitung der Hauptfraktion (20–50 % Sättigung) führt zu einer weiteren beträchtlichen Anreicherung im Präparat II (8 286 IE/g, 114fache Anreicherung) bei niedriger Viskosität.

#### Gewinnung des löslichen Arabinoxylans aus Roggen

Tabelle 2 faßt die Anreicherung des aus Roggen gewonnenen löslichen Arabinoxylans zusammen. Danach wird im Präparat I ein Arabinoxylangehalt von 49 % (31fache Anreicherung), im Präparat II durch die nachgeschaltete Ethanolfällung ein solcher von 81 % (50fache Anreicherung) erreicht. Tab. 3 gibt eine Übersicht zur chemischen Zusammensetzung der beiden Inhibitor- und Arabinoxylanpräparate im Vergleich zum jeweiligen Ausgangsprodukt. Hier wird ersichtlich, daß bei den beiden nachgereinigten Präparaten die Anreicherung mit dem Amylase-Inhibitor bzw. dem Arabinoxylan deutlich gesteigert wurde.

#### Versuche mit diabetischen Ratten

Abbildung 1 zeigt, daß 200 IE des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitors aus Roggen im Vergleich zur Kontrolle keine signifikanten Unterschiede des Blutglucoseverlaufs bewirken. Dagegen führt die gleiche Inhibitoraktivität aus Weizen zu einer signifikanten Verminderung des Glucoseanstiegs im Blut. Das dem Futter zugesetzte Arabinoxylan (100 mg) hat keinen spezifischen Einfluß auf die postprandiale Glukosekonzentration. Ergänzende Untersuchungen an stoffwechselgesunden Ratten lassen ebenfalls keine Beeinflussung des Anstiegs der Blutglucose durch den  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor und das lösliche Arabinoxylan des Roggens erkennen (nicht dokumentiert).

#### Untersuchungen an Stoffwechselgesunden und Typ-II-Diabetikern

Nach Verzehr der Testmahlzeit mit zugesetztem  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor aus Roggen durch Stoffwechselgesunde kann keine signifikante Verminderung des Glucoseanstiegs nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu zeigt Acarbose einen signifikant niedrigeren Anstieg (Abb. 2). Typ-II-Diabetiker haben nach Verzehr des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitors aus Roggen ebenfalls keine differenten Glykämieverläufe im Vergleich zur Kontrolle (nicht dokumentiert).

**Tabelle 2** Präparative Anreicherung des löslichen Arabinoxylans aus Roggenkleie

Präparat	Einsatzmenge bzw. Ausbeute (g)	lösliches Arabinoxylan (g/g Präp.)	Faktor der Anreicherung
Roggenkleie	100	0,016	
Arabinoxylan-Präparat I	2,1 ± 0,6 <sup>1)</sup>	0,50	31
Arabinoxylan-Präparat II	1,6 ± 0,5 <sup>2)</sup>	0,81	51

Präparat I: Ohne Fraktionierung mit Ethanol; Präparat II: Mit Ethanolfraktionierung

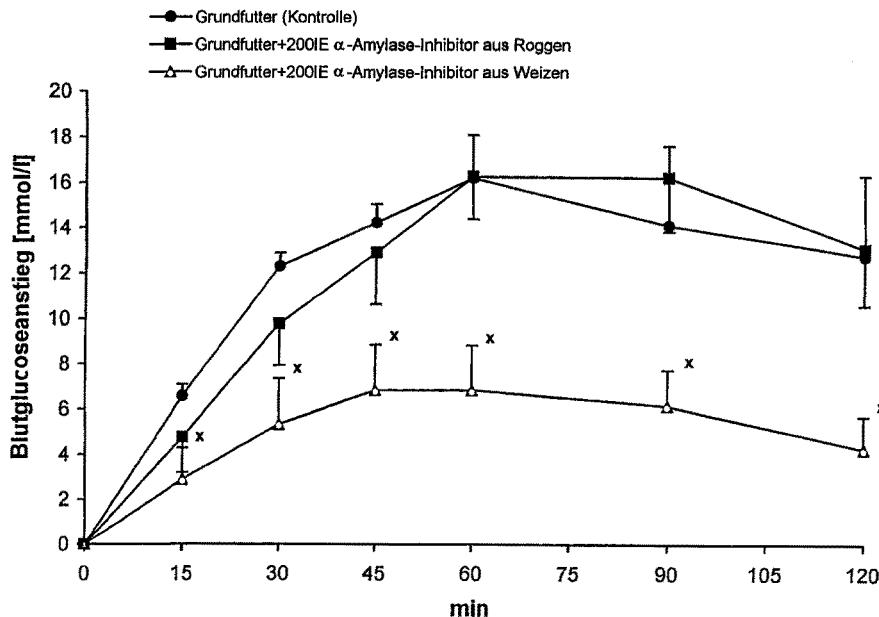
<sup>1)</sup> n = 11; <sup>2)</sup> n = 9

Tabelle 3 Zusammensetzung der  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor- und löslichen Arabinoxylan-Präparate aus Roggen

Inhaltsstoff	$\alpha$ -Amylase-Inhibitor- Präparat I (%)	$\alpha$ -Amylase-Inhibitor- Präparat II (%)	Arabinoxylan- Präparat I (%)	Arabinoxylan- Präparat II (%)
Protein (Nx5,76)	24,1	81,9	9,4	4,0
Stärke	46,9	7,3	31,2	10,6
Pentosen:				
Grav.enzym./Orcin	22,8	5,5	49,5	81,3
Wasser	5,2	4,5	6,1	3,8
Asche	1,6	0,5	3,1	1,6

Jeweils Mittelwert von 3 Einzelbestimmungen

Abb. 1 Postprandialer Anstieg der Blutglucose nach Applikation von 0,5 g Weizenstärke + 0,15 g Casein als Grundfutter (Kontrolle), +  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor aus Roggen oder Weizen bei diabetischen Ratten.  
x: p < 0,01 Inhibitor aus Weizen vs. Kontrolle, n = 5

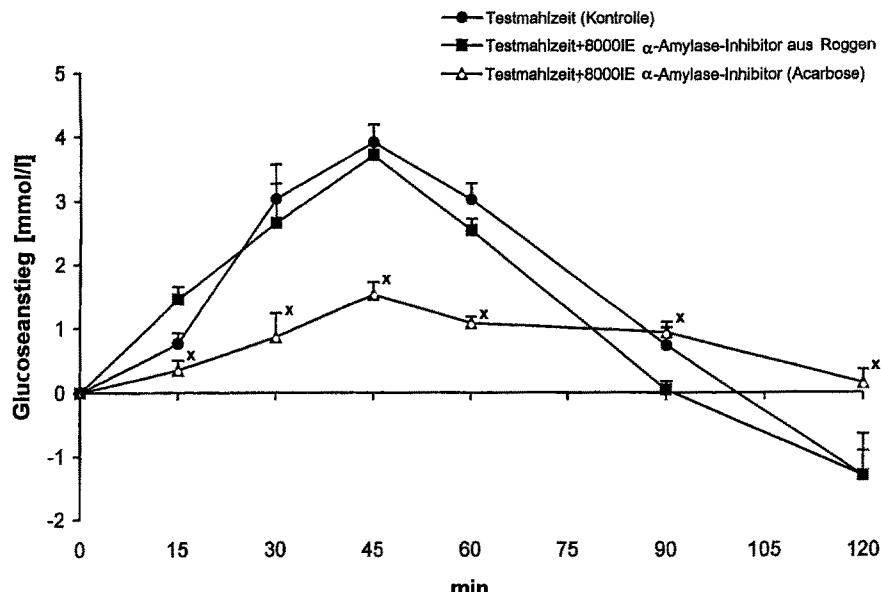


## Diskussion

Entsprechend der Zielstellung wird ein Präparat mit einer möglichst hohen  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor-Aktivität (D-Typ) aber frei von  $\alpha$ -Amylase- und -Inhibitor-Aktivität (R-Typ) sowie möglichst frei von löslichem Arabinoxylan hergestellt. Für die Eliminierung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amylase- und des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitors (R-Typ) bietet sich wie bei Weizen (5, 18, 21) deren Temperaturlabilität an. Durch eine 15minütige Erhitzung des Extraktes auf 80 °C werden  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amylase- und der  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor (R-Typ) vollständig inaktiviert, während der Amylase-Inhibitor (D-Typ) nur etwa 10–20 % an Aktivität einbüßt. Schwieriger gestaltet sich die Abtrennung des Arabinoxylans. Durch den einbezogenen Präinkubationsschritt mit Hemizellulase (Veron HE) wird zwar eine Reduzierung aber keine vollständige Eliminierung des Arabinoxylans erreicht (Tab. 3). Erst nach anschließender Ammoniumsulfat-

fraktionierung wird ein gering viskoses Präparat mit einer relativ hohen  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor-Aktivität erhalten, in dem die im abgebauten Zustand vorliegenden Restpentosane nur noch ca. 5 % ausmachen. Letztere beeinflussen die Viskosität des gelösten Präparates nur noch wenig. Aus den Untersuchungen zum Verlauf der Glykämie bei diabetischen und gesunden Ratten sowie bei gesunden und diabetischen Probanden geht hervor, daß der isolierte  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor des Roggen keinen Einfluß auf den Anstieg der postprandialen Blutglucosekonzentration und deren zeitlichen Verlauf hat. Auch eine Erhöhung der verabreichten Inhibitormenge bis auf 12 000 IE je Proband führte bei Diabetikern zu keiner Beeinflussung des postprandialen Glucoseanstiegs. Demgegenüber hat sich nach Verabreichung des  $\alpha$ -Amylase-Inhibitors aus Weizen an diabetischen Ratten eine signifikante Verminderung des postprandialen Glucoseanstiegs gezeigt (Abb. 1). Diese Wirksamkeit ist nach neuen Befunden auch am

**Abb. 2** Postprandialer Anstieg der Blutglucose nach Verzehr von 275 kcal (44 Energ. % KH, 38 Energ. % F, 18 Energ. % E) als Testmahlzeit (Kontrolle), +  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor (Roggen) oder Acarbose bei stoffwechselgesunden Probanden.  
x:  $p < 0,01$  Testmahlzeit vs. Acarbose, n = 4



Hund bestätigt worden (19). Die Ergebnisse deuten auf eine von der jeweiligen Getreideart abhängigen unterschiedlichen Stabilität des Inhibitorproteins hin. Untersuchungen, ob die ausgebliebene glykämiesenkende Wirkung des Inhibitors aus Roggen durch seinen proteolytischen Abbau zu erklären ist, sind noch offen. Nach orientierenden *in-vitro*-Versuchen mit dem  $\alpha$ -Amylase-Inhibitor des Roggens in Gegenwart von Trypsin zeigte sich bereits nach 10minütiger Inkubation eine etwas stärkere Abnahme der Inhibitoraktivität als bei Weizen. Der in die Untersuchungen einbezogene mikrobielle  $\alpha$ -Glucosidasehemmer Acarbose (17) hat erwartungsgemäß seinen hypoglykämischen Effekt im Humanexperiment bestätigt.

Trotz der Applikation des Arabinoxylans in einer Menge, die eine deutliche Erhöhung der Viskosität der Testmahlzeit zur Folge hatte (20 % der verabreichten Stärke), wurde bei Ratten eine postprandiale Dämpfung des Anstiegs der Blutglucose nicht nachgewiesen. Das Arabinoxylan des Roggens hat hiernach im Gegensatz zum  $\beta$ -Glucan des Hafers auf die Verdauung und Absorption der

Stärke keinen Einfluß. Es bleibt offen, ob dieser Wirkungsunterschied von der Art des polymeren Kohlenhydrates abhängt (Pentosane im Roggen,  $\beta$ -Glucane im Hafers), auf unterschiedliche Bindungen der Monomeren innerhalb der Kohlenhydratketten oder deren Vernetzung zurückzuführen ist. Nach Southgate (16) ist für die Beurteilung der tatsächlichen Wirksamkeit von polymeren Kohlenhydraten auch deren Molmasse einzubeziehen. Aus diesen Ergebnissen und den Angaben des Schrifttums ist zu schlußfolgern, daß die Wirksamkeit von  $\alpha$ -Amylase-Inhibitoren und löslichen Ballaststoffen auf die Verdauung und Absorption der Stärke und deren Abbauprodukte von der Getreideart abhängt. Ihre Eignung für eine Verzögerung der Stärkeverdauung, wie sie für Diabetiker wünschenswert ist, muß deshalb für jede Getreideart gesondert geprüft werden.

**Danksagung** Wir danken Frau Dr. habil. D. Klöting, Institut für Diabetes Karlsruhe für die Bereitstellung und Vorkontrolle der diabetischen Tiere sowie Frau Ingrid Emmer und Frau Ursula-Jenny Fischer für ausgezeichnete experimentelle Mitarbeit.

## Literatur

- Silano V (1987)  $\alpha$ -amylase inhibitors. In: Kruger JE, Lineback D, Stauffer CE (eds) Enzymes and their role in cereal technology. Amer Ass Cereal Chem Inc, St. Paul, pp 141–199
- Mundy J, Svendsen I, Hejgaard J (1983) Barley  $\alpha$ -amylase/subtilisin inhibitor, isolation and characterization. Carlsberg Res Commun 48:81–90
- Weselake R, Mac Gregor AW, Hill RD (1983) An endogenous  $\alpha$ -amylase inhibitor in barley kernels. Plant Physiol 72:809–812
- Warchalewski JR (1987) Purification and characteristics of an endogenous  $\alpha$ -amylase and trypsin inhibitor from wheat seeds. Nahrung 31:10
- Täufel A, Behnke U, Emmer I, Gabor R (1991) Studies on the germination specific  $\alpha$ -amylase and its inhibitor of rye (Secale cereale). 2. Isolation and characterization of the inhibitor. Z Lebensm Unters Forsch 193:9–14
- O'Connor CM, McGeeney KFV (1981) Isolation and characterization of flour inhibitors from wheat flour which display differential inhibition specificities for human salivary and human pancreatic  $\alpha$ -amylases. Biochim Biophys Acta 658:9–14
- Granum PE (1978) Purification and characterization of an  $\alpha$ -amylase-inhibitor from rye (Secale cereale). Food Biochem 2:103–110
- Täufel A, Böhm H, Flamme W (1995) Protein inhibitors of  $\alpha$ -amylases in quiescent and germinating grain of rye (Secale cereale). J Cereal Sci (eingereicht)

9. Sawa J, Yoshida M, Hozumi T, Sue-naga K, Doi K, Morimoto T, Miyazaki T (1993) Effect of a partial purified amylase inhibitor on carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. 15. Internationaler Ernährungskongress Adelaide 9/93
10. Schulze J, Zunft H-J (1993) Nahrungsbestandteile mit Ballaststoffcharakter. In: Schulze J, Bock W (Hrsg) Aktuelle Aspekte der Ballaststoffforschung. Behr's Verlag Hamburg, S 47–61
11. Fengler AI, Marquard RR (1988) Water-soluble pentosans from rye: I. Isolation, partial purification and characterization. *Cereal Chem* 65:291–297
12. Wood JP (1993) Physicochemical characterization and physiological properties of oat (1–3), (1–4)- $\beta$ -D-glucan. In: Wood PJ (ed) Oat bran. Amer Ass Cereal Chem, St. Paul Minn, pp 83–112
13. Behnke U, Täufel A, Emmer I (1991) Studies on the germination specific  $\alpha$ -amylase and its inhibitor of rye (*Secale cereale*). 3. Estimation of  $\alpha$ -amylase-inhibitor activity. *Z Lebensm Unters Forsch* 193:423–427
14. Abschlußbericht zum Forschungsvorhaben: Getreidestärkeverbund (1995), Teilvorhaben 3: Ermittlung der Aktivität von Protein-Inhibitoren der Alpha-Amylase aus Getreide zur Prüfung ihrer Bedeutung bei der Verwertung von Getreide als nachwachsender Rohstoff. BMFT der Bundesrepublik, FKZ 0310031A
15. Täufel A, Flamme W, Czauderna R (1995) Activities of two types of  $\alpha$ -amylase inhibitors of rye, wheat and triticale in dependence of weather conditions and nitrogen fertilization. *J Cereal Sci* (in Vorbereitung)
16. Southgate DAT (1995) The structure of dietary fibre. In: Kritchevsky D, Bonfield C (eds) Dietary fiber in health & disease. Eagan Press St. Paul, Minn, USA
17. Schmidt EW (1987)  $\alpha$ -Glucosidase-Inhibition durch Acarbose, ein neues Prinzip in der Therapie des Diabetes mellitus. Bayer AG, Leverkusen
18. Deponte R, Parlamenti R, Petracci T, Silano V, Tomasi M (1976) Albumin  $\alpha$ -amylase inhibitor families from wheat flour. *Cereal Chemistry* 53:805
19. Koike D, Yamadera K, DiMango EP (1995) Effect of a wheat amylase inhibitor on canine carbohydrate digestion. *Gastroenterology* 108:1221–1229
20. Puls W (1990) Diabetes Mellitus und Glucobay – Therapeutisches Potential eines neuen Therapieprinzips. Bayer, Schwer Verlag, Stuttgart
21. Abdul-Hussain S, Paulsen GM (1989) Role of proteinaceous  $\alpha$ -amylase enzyme inhibitors in preharvest sprouting of wheat grain. *J Agric Food Chem* 37:295–299
22. Prosky L, Asp NG, Furde I, DeVries JW, Schweitzer TF, Harland BF (1984) Determination of total dietary fiber in foods, food products, and total diets: Inter-laboratory study. *J Assoc Off Anal Chem* 67:1044–1052
23. Kunerth WH, Youngs VL (1984) Modification of the anthrone, carbazole, and orcinol reactions for quantitation of monosaccharides. *Cereal Chem* 61:344–349