

Einfluss technologischer Verfahren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E aus angereicherten Lebensmitteln

**Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover**

**zur Erlangung des Grades
Doktorin der Naturwissenschaften
Dr. rer. nat.**

**genehmigte Dissertation
von**

**M.Sc. Inga Schneider
geboren am 16.11.1975 in Hannover**

2010

Referent: Prof. Dr. oec. troph. Andreas Hahn

Korreferentin: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Brita Watkinson

Tag der Promotion: 04.06.2010

Kurzzusammenfassung

Vitamin E ist das bedeutsamste lipophile Antioxidans im menschlichen Organismus und kann darüber hinaus antiatherogen, immunmodulatorisch, antiinflammatorisch sowie neuroprotektiv wirken. Aufgrund dieser vielfältigen Funktionen wird diskutiert, dass eine Optimierung der Vitamin-E-Versorgung einen Beitrag zur Prävention ernährungsassoziierter Erkrankungen leisten könnte. Um dies zu erreichen bietet es sich an, mit Vitamin E fortifizierte Lebensmittel einzusetzen, aus denen die Substanz gut bioverfügbar ist.

Ziel dieser Arbeit war es, mit 60 mg RRR- α -Tocopherol – als wichtigstem Vertreter der Vitamin-E-Gruppe – angereicherte, emulsionsbasierte Modelllebensmittel und isolierte Emulsionen technologisch so zu optimieren, dass das enthaltene Vitamin eine möglichst hohe Bioverfügbarkeit aufwies. Dabei galt es insbesondere zu überprüfen, inwieweit die technologischen Charakteristika der Lebensmittelmatrizes Rückschlüsse auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E aus den Emulsionen zulassen.

In einem gestuften Vorgehen konnte anhand verschiedener Humanstudien gezeigt werden, dass das RRR- α -Tocopherol aus Frischkäse sowohl kurzfristig über 24 h ($p=0,010$) als auch langfristig über 28 d ($p=0,017$) signifikant besser bioverfügbar war als das aus Mayonnaise oder aus Pudding. Als wichtiger Einflussfaktor erwies sich zudem die Größe der Emulsionspartikel von Frischkäse, wobei ein linearer Zusammenhang zwischen der Partikelgröße und der Bioverfügbarkeit vorlag. Auch der pH-Wert besaß einen modifizierenden Einfluss auf die Verfügbarkeit des RRR- α -Tocopherols aus der Lipidemulsion von Frischkäse. Diese war bei einem pH-Wert von 4,5 signifikant höher ($p=0,039$) als bei einem pH-Wert von 6,5. Die Untersuchung der Reinemulsion ergab, dass deren Trocknung mit einer signifikanten Senkung ($p=0,006$) der Verfügbarkeit im Vergleich zu nicht getrockneten Emulsionen verbunden war.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass RRR- α -Tocopherol sowohl kurz- als auch langfristig die höchste Bioverfügbarkeit aufwies, wenn es einem Frischkäse zugesetzt wurde. Dabei korrelierte die Höhe der Absorption invers mit der Partikelgröße; die Bioverfügbarkeit konnte jedoch über die Variation der Partikelgröße gegenüber der Standardrezeptur kaum gesteigert werden. Ein niedriger pH-Wert der Prüfprodukte, der im Bereich des physiologischen pH-Werts des Dünndarms lag, hatte einen positiven Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von RRR- α -Tocopherol. Die Trocknung der Emulsionen führte zu einer Verringerung der Absorption von RRR- α -Tocopherol, womit dem potentiellen Vorteil einer verbesserten Haltbarkeit der Emulsion der Nachteil einer verminderten Bioverfügbarkeit des Vitamin E gegenübersteht.

Schlagnworte: Vitamin E, Bioverfügbarkeit, angereicherte Lebensmittel, Technologie

Abstract

Vitamin E is the main lipophilic antioxidant and is required by humans for various metabolic functions. Higher intakes of vitamin E have favourable effects on a variety of disease processes, such as antiarteriosclerotic, deteriorating immune, neuroprotective or anti-inflammatory functions. The amount of vitamin E resulting in preventive function cannot be gained by natural food. By consuming vitamin E-enriched food it is likely to take in adequate amounts of vitamin E in order to prevent certain diseases without needing to ingest specific supplements. The vitamin E of enriched food has to exhibit maximal bioavailability to ensure a sufficient intake of vitamin E with one portion of fortified food.

The aim of the present study was to develop an enriched food which can ensure a high bioavailability of vitamin E in order to prevent various diseases. Thus volunteers were given test foods (cream cheese, mayonnaise, pudding) that were fortified with 60 mg RRR- α -tocopherol. The test foods were technologically modified and the bioavailability of RRR- α -tocopherol was determined by kinetic studies in four study periods. Furthermore, we wanted to examine whether the bioavailability can be affected by technological properties of fortified food.

Compared with the mayonnaise group and the pudding group serum α -tocopherol AUC was significant higher in the cream cheese group. This was found in the short-term-kinetic about 24 h ($p=0.010$) and in the long-term-kinetic about 28 d ($p=0.017$). Analyzing the serum α -tocopherol AUC levels of cream cheese with three different particle sizes we detected significant differences ($p=0.043$) between the three groups. There was a negative correlation between the particle size and the bioavailability of RRR- α -tocopherol. However, the amount of absorption could not be increased in comparison to standard formulation of cream cheese. Significant higher serum α -tocopherol AUC levels ($p=0.039$) were found in the cream cheese emulsion with a pH-value of 4.5 compared to the cream cheese emulsion with pH-value of 6.5. The α -tocopherol AUC of the standard cream cheese emulsion was significant higher ($p=0.006$) than dried cream cheese emulsion.

In conclusion, it can be stated that the bioavailability of RRR- α -tocopherol of cream cheese showed the highest levels both for short-term and long-term periods. Furthermore, the bioavailability appears to be negatively related to the particle size of emulsions of cream cheese. A low pH-value of the test food increased the bioavailability of RRR- α -Tocopherol. Drying of the emulsions resulted in a reduced bioavailability of RRR- α -tocopherol.

Keywords: vitamin E, bioavailability, fortified food, technology

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielsetzung.....	1
2	Vitamin E	3
2.1	Struktur	3
2.2	Vorkommen und Stabilität.....	5
2.3	Kinetik.....	7
2.3.1	Absorption.....	7
2.3.2	Verteilung.....	8
2.3.3	Speicherung.....	11
2.3.4	Metabolismus und Ausscheidung.....	12
2.4	Physiologische Funktionen und präventive Aspekte.....	13
2.5	Bedarf, Status, Mangel und Toxizität	19
2.6	Bioverfügbarkeit.....	22
2.6.1	Einflussfaktor Dosis.....	23
2.6.2	Einflussfaktor Vitamin-E-Derivat.....	23
2.6.3	Einflussfaktor Plasmalipidstatus.....	25
2.6.4	Einflussfaktor Genetik	26
2.6.5	Einflussfaktor Rauchen	27
2.6.6	Einflussfaktor Ernährung.....	27
3	Anreicherung von Lebensmitteln.....	35
3.1	Begriffsbestimmung und rechtliche Grundlagen	35
3.2	Emulsionen	36
3.2.1	Definition.....	36
3.2.2	Eigenschaften	38
3.2.2.1	Stabilität und Emulgierhilfsstoffe.....	40
3.2.2.2	Grenzflächen.....	41
3.2.2.3	Rheologie	43
3.2.3	Herstellung.....	45
3.3	Technologische Aspekte der Modelllebensmittel	46
3.3.1	Frischkäse	46
3.3.2	Mayonnaise	49
3.3.3	Pudding.....	50
3.4	Analytische Charakterisierung	51
3.4.1	Verteilungskoeffizient	51

3.4.2	Partikelgrößenverteilung	51
3.4.3	Emulsionsstabilität	52
3.4.4	Extrahierbarer Fettanteil.....	53
3.4.5	Oberflächentopographie.....	53
3.4.6	Strukturcharakterisierung	54
3.4.7	Rheologische Eigenschaften.....	55
4	Material und Methoden	57
4.1	Allgemeines	57
4.1.1	Studiendesign	57
4.1.2	Studienkollektiv	58
4.1.3	Studienablauf	60
4.1.4	Erhebungsinstrumente	63
4.1.4.1	Anthropometrische Daten.....	63
4.1.4.2	Ernährungsprotokoll	63
4.1.4.3	Blutentnahmen und Analyse biochemischer Parameter.....	64
4.1.5	Ermittlung biokinetischer Parameter.....	67
4.1.6	Herstellung der Prüfprodukte	69
4.1.6.1	Frischkäse	70
4.1.6.2	Mayonnaise	72
4.1.6.3	Pudding	73
4.1.6.4	Emulsionen	74
4.1.7	Analytik der Prüfprodukte	75
4.1.7.1	Verteilungskoeffizient	75
4.1.7.2	Partikelgrößenverteilung.....	76
4.1.7.3	Emulsionsstabilität.....	77
4.1.7.4	Extrahierbarer Fettanteil	77
4.1.7.5	Oberflächentopographie	78
4.1.7.6	Strukturcharakterisierung	78
4.1.7.7	Rheologische Eigenschaften	78
4.1.8	Statistische Verfahren	79
4.2	Studienphase I	79
4.2.1	Studiendesign	79

4.2.2	Prüfprodukte und Dosierung	80
4.2.3	Erhobene Parameter.....	80
4.3	Studienphase II.....	80
4.3.1	Studiendesign	80
4.3.2	Prüfprodukte und Dosierung	81
4.3.3	Erhobene Parameter.....	81
4.4	Studienphase III.....	81
4.4.1	Studiendesign	81
4.4.2	Prüfprodukte und Dosierung	81
4.4.3	Erhobene Parameter.....	82
4.5	Studienphase IV	82
4.5.1	Studiendesign	82
4.5.2	Prüfprodukte und Dosierung	83
4.5.3	Erhobene Parameter.....	83
5	Ergebnisse.....	84
5.1	Studienphase I.....	84
5.1.1	Studienkollektiv	84
5.1.1.1	Anthropometrische Daten.....	84
5.1.1.2	Ernährungsverhalten	84
5.1.1.3	Biochemische Parameter	85
5.1.2	Biokinetische Parameter	86
5.1.3	Technologische Parameter	89
5.1.3.1	Verteilungskoeffizient	89
5.1.3.2	Partikelgrößenverteilung.....	90
5.1.3.3	Emulsionsstabilität.....	91
5.1.3.4	Extrahierbarer Fettanteil	91
5.1.3.5	Oberflächentopographie	92
5.1.3.6	Strukturcharakterisierung	95
5.1.3.7	Rheologische Eigenschaften	96
5.2	Studienphase II.....	98
5.2.1	Kurzzeitkinetik.....	98
5.2.1.1	Studienkollektiv	98

5.2.1.1.1	Anthropometrische Daten	98
5.2.1.1.2	Ernährungsverhalten	98
5.2.1.1.3	Biochemische Parameter.....	99
5.2.1.2	Biokinetische Parameter.....	100
5.2.1.3	Technologische Parameter.....	102
5.2.2	Langzeitkinetik	103
5.2.2.1	Studienkollektiv	103
5.2.2.1.1	Anthropometrische Daten	103
5.2.2.1.2	Ernährungsverhalten	104
5.2.2.1.3	Biochemische Parameter.....	104
5.2.2.2	Biokinetische Parameter.....	105
5.2.2.3	Technologische Parameter.....	107
5.3	Studienphase III.....	107
5.3.1	Studienkollektiv	108
5.3.1.1	Anthropometrische Daten.....	108
5.3.1.2	Ernährungsverhalten	108
5.3.1.3	Biochemische Parameter	109
5.3.2	Biokinetische Parameter	110
5.3.3	Technologische Parameter	114
5.3.3.1	Partikelgrößenverteilung.....	114
5.3.3.2	Extrahierbarer Fettanteil.....	115
5.4	Studienphase IV	115
5.4.1	Studienkollektiv	116
5.4.1.1	Anthropometrische Daten.....	116
5.4.1.2	Ernährungsverhalten	116
5.4.1.3	Biochemische Parameter	117
5.4.2	Biokinetische Parameter	118
5.4.3	Technologische Parameter	131
5.4.3.1	Partikelgrößenverteilung.....	131

5.4.3.2	Extrahierbarer Fettanteil	131
5.4.3.3	Oberflächentopographie	132
6	Diskussion	134
6.1	Methodische Gesichtspunkte	135
6.1.1	Endogene Einflussfaktoren	135
6.1.2	Exogene Einflussfaktoren	140
6.1.3	Biokinetische Parameter	146
6.1.4	Technologische Parameter	151
6.2	Biokinetikstudien	154
6.2.1	Studienphase I	154
6.2.1.1	Biokinetische Parameter	154
6.2.1.2	Technologische Parameter	155
6.2.1.3	Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter	158
6.2.2	Studienphase II	159
6.2.2.1	Kurzzeitkinetik	160
6.2.2.1.1	Biokinetische Parameter	160
6.2.2.1.2	Technologische Parameter	160
6.2.2.1.3	Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter	161
6.2.2.2	Langzeitkinetik	163
6.2.2.2.1	Biokinetische Parameter	163
6.2.2.2.2	Technologische Parameter	163
6.2.2.2.3	Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter	164
6.2.3	Studienphase III	165
6.2.3.1	Biokinetische Parameter	165
6.2.3.2	Technologische Parameter	166
6.2.3.3	Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter	167
6.2.4	Studienphase IV	169
6.2.4.1	Biokinetische Parameter	169
6.2.4.2	Technologische Parameter	172
6.2.4.3	Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter	173

6.3	Zusammenführende Betrachtung der Gesamtergebnisse	174
6.3.1	Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten.....	174
6.3.2	Aussagekraft technologischer Parameter	180
6.4	Schlussbetrachtung	182
7	Zusammenfassung	184
8	Literaturverzeichnis.....	190
9	Anhang	210

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Tocol-Grundgerüst, Tocopherol und Tocotrienol.....	3
Abbildung 2: Verteilung von α -Tocopherol im menschlichen Körper.....	8
Abbildung 3: Lipidperoxidation (Initiation und Propagation) und Termination der Lipidperoxidation durch α -Tocopherol, modifiziert nach Schneider [2005].....	14
Abbildung 4: Schematische Darstellung einer Emulsion.....	38
Abbildung 5: Intermolekulare Wechselwirkungen an einer Phasengrenze.....	42
Abbildung 6: Struktur von Rahmfrischkäse (Quelle: Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V.).....	54
Abbildung 7: Übersicht Studienablauf.....	60
Abbildung 8: Bateman-Funktion, Blutspiegelkurve bei gleichzeitig stattfindender Invasion und Elimination.....	68
Abbildung 9: Ablaufschema Herstellungsverfahren Frischkäse.....	71
Abbildung 10: Ablaufschema Herstellungsverfahren Mayonnaise.....	73
Abbildung 11: Ablaufschema Herstellungsverfahren Schokopudding.....	74
Abbildung 12: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Studienphase I, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	88
Abbildung 13: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Studienphase I, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	88
Abbildung 14: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Studienphase I, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	89
Abbildung 15: Struktur des Frischkäses, Ausschnitt 1, Balken entspricht 5 μ m.....	92
Abbildung 16: Struktur des Frischkäses, Ausschnitt 2, Balken entspricht 5 μ m.....	92
Abbildung 17: Struktur der Mayonnaise, Ausschnitt 1, Balken entspricht 10 μ m.....	93
Abbildung 18: Struktur der Mayonnaise, Ausschnitt 2, Balken entspricht 10 μ m.....	93
Abbildung 19: Struktur des Puddings, Ausschnitt 1, Balken entspricht 1 μ m.....	94
Abbildung 20: Struktur des Puddings, Ausschnitt 2, Balken entspricht 1 μ m.....	94
Abbildung 21: Verteilung von Fett (rot) und Protein (grün) in der Mayonnaise.....	95
Abbildung 22: Verteilung von Fett (rot) und Protein (grün) im Pudding.....	96

Abbildung 23: Viskositätsfunktion der Prüflebensmittel.....	97
Abbildung 24: Oszillationsfunktion der Prüflebensmittel	97
Abbildung 25: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	101
Abbildung 26: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	101
Abbildung 27: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	102
Abbildung 28: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Langzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=9, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	106
Abbildung 29: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Langzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=9, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	106
Abbildung 30: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Langzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=9, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	107
Abbildung 31: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Studienphase III, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=7, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	112
Abbildung 32: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Studienphase III, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=7, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	113
Abbildung 33: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Studienphase III, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=7, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	114
Abbildung 34: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	119
Abbildung 35: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	119

Abbildung 36: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	120
Abbildung 37: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert getrocknet 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	121
Abbildung 38: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert getrocknet 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	122
Abbildung 39: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert getrocknet 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	122
Abbildung 40: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	124
Abbildung 41: α -TocopherolGesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	124
Abbildung 42: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	125
Abbildung 43: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	126
Abbildung 44: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	127
Abbildung 45: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	127

Abbildung 46: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5, Emulsion pH-Wert 4,5, Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	129
Abbildung 47: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5, Emulsion pH-Wert 4,5, Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol.....	129
Abbildung 48: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5, Emulsion pH-Wert 4,5, Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol	130
Abbildung 49: Struktur der Emulsion pH-Wert 6,5; Ausschnitt 1, Balken entspricht 50 μ m	132
Abbildung 50: Struktur der Emulsion pH-Wert 6,5; Ausschnitt 2, Balken entspricht 50 μ m	132
Abbildung 51: Struktur der Emulsion pH-Wert 4,5; Ausschnitt 1, Balken entspricht 50 μ m	133
Abbildung 52: Struktur der Emulsion pH-Wert 4,5; Ausschnitt 2, Balken entspricht 50 μ m	133

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Relative biologische Aktivität ausgewählter Tocopherole und Tocotrienole.....	4
Tabelle 2: Prozentuale Gehalte der Vitamin-E-Derivate in ausgewählten Nahrungsmitteln	5
Tabelle 3: α -Tocopherol-Gehalt ausgewählter Nahrungsmitteln sowie deren Nährstoffdichte.	6
Tabelle 4: Mittlere α -Tocopherol-Gehalte im Blut und Gewebe gesunder Erwachsener ..	11
Tabelle 5: Schätzwerte für eine angemessene Zufuhr an Vitamin E für Erwachsene	20
Tabelle 6: Studien zum Einfluss von verschiedenen Ernährungsfaktoren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E	31
Tabelle 7: Typen einfacher disperser Systeme.....	37
Tabelle 8: Eigenschaften bzw. Erkennungsmerkmale von O/W- und W/O-Emulsionen ...	39
Tabelle 9: Übersicht der Studienphasen mit Studiendesign, verabreichten Prüfprodukten und untersuchtem Einflussfaktor auf die Bioverfügbarkeit	57
Tabelle 10: Bestimmungsmethoden der Parameter mit Probenmaterial und Messbereichen	65
Tabelle 11: Übersicht zu den in Studienphase I eingesetzten Prüfprodukten	80
Tabelle 12: Übersicht zu den in Studienphase II eingesetzten Prüfprodukten.....	81
Tabelle 13: Übersicht zu den in Studienphase III eingesetzten Prüfprodukten.....	82
Tabelle 14: Übersicht zu den in Studienphase IV eingesetzten Prüfprodukten	83
Tabelle 15: Anthropometrische Daten des Kollektivs der Studienphase I, n=5	84
Tabelle 16: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamtcholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Studienphase I, n=5.....	85
Tabelle 17: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, mittlerer Rang) des Frischkäse-, Pudding- und Mayonnaisekollektivs der Studienphase I, n=5.....	86
Tabelle 18: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Studienphase I, n=5.....	86
Tabelle 19: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Puddingkollektivs der Studienphase I, n=5.....	87
Tabelle 20: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Mayonnaise- und Puddingkollektivs der Studienphase I, n=5.....	87

Tabelle 21: Verteilungskoeffizienten von α -Tocopherol der Prüfprodukte der Studienphase I	90
Tabelle 22: Partikelgrößenverteilung der Prüfprodukte der Studienphase I mit X_{10} , X_{50} und X_{90} , dem Größenverteilungskoeffizienten (δ) sowie der spezifischen Grenzfläche (GF_0)	90
Tabelle 23: Emulsionsstabilität (S_{GF}) der Prüfprodukte der Studienphase I mit der spezifischen Grenzfläche nach 0 (GF_0) und 7 (GF_7) Tagen	91
Tabelle 24: Extrahierbarer Fettanteil (EFA) der Prüfprodukte der Studienphase I als Mittelwert \pm Standardabweichung	91
Tabelle 25: Anthropometrische Daten der Subkollektive der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, n=5	98
Tabelle 26: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, n=5	99
Tabelle 27: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, n=5	100
Tabelle 28: Anthropometrische Daten des Kollektivs der Langzeitkinetik der Studienphase II, n=9	103
Tabelle 29: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Langzeitkinetik der Studienphase II, n=9	104
Tabelle 30: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Langzeitkinetik der Studienphase II, n=9	105
Tabelle 31: Anthropometrische Daten des Kollektivs der Studienphase III, n=7	108
Tabelle 32: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Studienphase III, n=7	109
Tabelle 33: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, mittlerer Rang) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße, Frischkäse normale und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7	110

Tabelle 34: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße und Frischkäse normale Partikelgröße der Studienphase III, n=7	111
Tabelle 35: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse normale Partikelgröße und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7	111
Tabelle 36: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7	112
Tabelle 37: Partikelgrößenverteilung der Prüfprodukte der Studienphase III mit X_{10} , X_{50} und X_{90} , dem Größenverteilungskoeffizienten (δ) sowie der spezifischen Grenzfläche (GF_0)	115
Tabelle 38: Extrahierbarer Fettanteil (EFA) der Prüfprodukte der Studienphase III als Mittelwert \pm Standardabweichung.....	115
Tabelle 39: Anthropometrische Daten des Kollektivs der Studienphase IV, n=8.....	116
Tabelle 40: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Studienphase IV, n=8	117
Tabelle 41: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8	118
Tabelle 42: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8.....	121
Tabelle 43: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, n=8.....	123
Tabelle 44: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8.....	126
Tabelle 45: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, mittlerer Rang) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 6,5; Emulsion pH-Wert 4,5; Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8.....	128

Tabelle 46: Partikelgrößenverteilung der Prüfprodukte der Studienphase IV mit X_{10} , X_{50} und X_{90} , dem Größenverteilungskoeffizienten (δ) sowie der spezifischen Grenzfläche (GF_0)	131
Tabelle 47: Extrahierbarer Fettanteil (EFA) der Prüfprodukte der Studienphase IV als Mittelwert \pm Standardabweichung.....	131

Abkürzungsverzeichnis / Glossar

Apo E	Apolipoprotein E
AUC	area under the concentration/time curve, Fläche unter der Serumkonzentration-Zeit-Kurve
BMI	Body Mass Index, Körpermassenindex
CLSM	Confocale Laser Scanning Microscopy
C_{\max}	maximale Plasma- bzw. Serumkonzentration
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DRI	Dietary Reference Intakes
EFA	extrahierbarer Fettanteil
Fett i.Tr.	Fettgehalt in der Trockenmasse
g	Fallbeschleunigung
GF	spezifische Grenzfläche
HDL	high density lipoproteins, Lipoproteine hoher Dichte
HPLC	high performance liquid chromatography, Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie
IE	Internationale Einheiten
k. A.	keine Angaben
Konz.	Konzentration
LDL	low density lipoproteins, Lipoproteine geringer Dichte
mean	arithmetisches Mittel, Mittelwert
MJ	Megajoule, 1000 Kilojoule
MUFA	mono unsaturated fatty acids, einfach ungesättigte Fettsäuren
n	number, Anzahl der Personen
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (reduziert)
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
O/W	Öl-in-Wasser
p	probability, Wahrscheinlichkeit, Signifikanzniveau

PAL	physical activity level, Grad der körperlichen Aktivität
PUFA	poly unsaturated fatty acids, mehrfach ungesättigte Fettsäuren
REM	Raster-Elektronenmikroskopie
SAE	serious adverse events, ernsthafte Ereignisse
SD	standard deviation, Standardabweichung
SFA	saturated fatty acids, gesättigte Fettsäuren
S _{GF}	Stabilität der Grenzfläche
TÄ	Tocopherol-Äquivalent
TAP	α-Tocopherol-assoziiertes Protein
TBP	α-Tocopherol-Bindungsprotein
TC	total cholesterol, Gesamtcholesterol
TG	triacylglycerides, Triacylglyceride
t _{max}	Zeit bis zum Erreichen der maximalen Plasma- bzw. Serumkonzentration (C _{max})
TS	Trockensubstanz
TTP	α-Tocopherol-spezifisches Transportprotein
UL	Tolerable Upper Intake Level
UV	Ultraviolettstrahlung
VLDL	very low density lipoproteins, Lipoproteine sehr geringer Dichte
W/O	Wasser-in-Öl

1 Einleitung und Zielsetzung

Vitamin E gehört zu den fettlöslichen Vitaminen. Es ist die Bezeichnung für alle Tocol- und Tocotrienolderivate bzw. eine Sammelbezeichnung für Verbindungen, die qualitativ die gleiche biologische Wirkung wie RRR- α -Tocopherol aufweisen [Jensen und Lauridsen 2007, S. 283]. Im menschlichen Stoffwechsel ist Vitamin E an zahlreichen biochemischen und zellbiologischen Prozessen beteiligt. Zu den wichtigsten Funktionen zählen seine antioxidativen Eigenschaften. Hierbei steht der Schutz der Zellmembranen vor Lipidperoxidation der mehrfach ungesättigten Fettsäuren durch freie Radikale im Vordergrund. Darüber hinaus kann Vitamin E antiatherogen, immunmodulatorisch, antiinflammatorisch, antithrombotisch sowie neuroprotektiv wirken [Kamal-Eldin und Appelqvist 1996; Schneider 2005]. Im Speziellen kann Vitamin E vor allem bei kardiovaskulären Erkrankungen positive Effekte erzielen, da es die Oxidierbarkeit der Lipoproteine mit geringer Dichte (low density lipoproteins, LDL) hemmt, entzündungshemmend wirkt, die Thrombozytenaggregation inhibiert und zahlreiche Enzyme beeinflusst [Gaziano 2004; Meydani 2004; Singh und Jialal 2004]. Aufgrund seiner vielfältigen Funktionen wird derzeit die Bedeutung einer ausreichenden Versorgung für die Prävention ernährungsassoziierter Erkrankungen, wie kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes Mellitus oder Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, diskutiert [Packer 1991; Traber und Sies 1996]. Die Prävalenz dieser Erkrankungen, vor allem die der kardiovaskulären Erkrankungen, nimmt stetig zu, so dass sie weltweit im Fokus von Präventionsprogrammen stehen [WHO 2003].

Im Allgemeinen wird von einem Bedarf für Erwachsene von 12-15 mg α -Tocopherol ausgegangen; diese Angabe basiert auf der empfohlenen Zufuhr von täglich 14-19 g mehrfach ungesättigte Fettsäuren [Horwitt 1974]. Eine Vitamin-E-Aufnahme in dieser Größenordnung lässt sich alimentär nur über die Zufuhr von pflanzlichen Fetten erreichen [Souci et al. 2008]. So ist in Deutschland, gemessen an den Zufuhrempfehlungen, durchschnittlich von einer zu geringen Versorgung der Bevölkerung mit Vitamin E auszugehen [Beitz et al. 2002; Deutsche Gesellschaft für Ernährung 2004, S. 38f]. Auch in den USA wird nach dem National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES, 1999-2000) die Empfehlung des Dietary Reference Intakes (DRI) von 15 mg α -Tocopherol/Tag nicht erreicht [Food and Nutrition Board 2000, S. 507]. Um dennoch eine ausreichende Versorgung mit Vitamin E für die Prävention ernährungsassoziierter Erkrankungen zu gewährleisten, können fortifizierte Lebensmittel, die eine hohe Bioverfügbarkeit von Vitamin E gewährleisten können, eingesetzt werden.

Die Bioverfügbarkeit von Vitamin E wird von vielfältigen Faktoren beeinflusst. Sie hängt, wie Studien gezeigt haben, neben individuellen Unterschieden, vom jeweiligen Isomer, der Lebensmittelmatrix, der gleichzeitigen Zufuhr von Fetten, der Art der hierin

enthaltenen Fettsäuren sowie weiteren Faktoren ab [Borel 2003; Cohn 1997; Lodge et al. 2004]. Diese Einflussfaktoren auf die Höhe der Absorption von Vitamin E, sind bei der Planung und Durchführung von Biokinetikstudien zu beachten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Vitamin E angereicherte, emulsionsbasierte Modelllebensmittel und isolierte Emulsionen technologisch so zu entwickeln und zu optimieren, dass das enthaltene Vitamin E eine möglichst hohe Bioverfügbarkeit aufweist. Aufgrund dieses Optimierungsprozesses ergaben sich mehrere aufeinander folgende Studienphasen. In diesen wurden jeweils die Prüfprodukte lebensmitteltechnologisch modifiziert und die Bioverfügbarkeit von Vitamin E mittels Biokinetikuntersuchungen bestimmt. In den nachfolgenden Studienphasen erfolgte jeweils eine aktuelle Anpassung des Studiendesigns aufgrund der erhobenen Daten der vorhergehenden Untersuchungen. Vor dem Hintergrund der Verbesserung der Versorgung mit Vitamin E über eine Anreicherung von Lebensmitteln, war es plausibel Lebensmittel einzusetzen, die üblicherweise im Rahmen einer normalen Ernährungsweise verzehrt werden. Des Weiteren wurde RRR- α -Tocopherol als Modellsubstanz ausgewählt und zur Anreicherung der Prüfprodukte genutzt. Dieses Vitamin-E-Derivat weist zum einen die höchste Absorptionsrate und zum anderen die größte biologische Aktivität auf [Lodge 2005]. Darüber hinaus sollte der Frage nachgegangen werden, inwieweit die technologischen Charakteristika der Lebensmittelmatrizes Rückschlüsse auf die Bioverfügbarkeit von fettlöslichen Substanzen aus Emulsionen zulassen. Diese vergleichende Analyse wurde im Rahmen dieser Arbeit erstmals für Vitamin E durchgeführt, so dass praktisch keine entsprechende Literatur zum Vergleich herangezogen werden konnte.

Im Folgenden wird ein thematischer Überblick über Vitamin E gegeben, wobei beispielsweise die strukturellen Eigenschaften, die Kinetik, die physiologischen Funktionen und vor allem die Einflussfaktoren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E erläutert werden. Weiterhin wird auf die thematischen Grundlagen zu den Eigenschaften, der Herstellung und der Charakterisierung der angereicherten Prüfprodukte eingegangen. Nach einer Beschreibung des Ablaufs der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen werden deren Ergebnisse aufgezeigt. Abschließend werden das Studiendesign im Hinblick auf die Vergleichbarkeit mit anderen Studien mit entsprechender Fragestellung und die davon abgeleitete Aussagefähigkeit der ermittelten Daten kritisch diskutiert. Im Anschluss erfolgen zunächst eine getrennte sowie nachfolgend eine gemeinsame Diskussion der Studienphasen in Bezug auf die Optimierung der Höhe der Absorption von RRR- α -Tocopherol aus den Prüfprodukten sowie auf die Eignung der technologischen Parameter zur Prognostizierung der Bioverfügbarkeit von RRR- α -Tocopherol.

2 Vitamin E

2.1 Struktur

Vitamin E ist die Sammelbezeichnung für alle Tocol- und Tocotrienolderivate, die qualitativ die gleiche biologische Wirkung wie das natürliche RRR- α -Tocopherol aufweisen. Tocol- und Tocotrienolderivate sind lipophil und bestehen aus einem Chromanring mit unterschiedlicher Anzahl substituierter Methylgruppen und einer Seitenkette aus 3 Isoprenmolekülen. Während bei Tocopherolen die Seitenkette gesättigt ist, besitzen Tocotrienole eine ungesättigte Seitenkette (Abbildung 1). In der Natur werden vier Tocopherole (α -, β -, γ -, δ -Tocopherol) sowie vier Tocotrienole (α -, β -, γ -, δ -Tocotrienol) synthetisiert, die jeweilige Bezeichnung richtet sich nach der Anzahl und der Verteilung der Methylgruppen am Chromanring [Pietrzik et al. 2008, S. 291]. Darüber hinaus kommt Tocopherol in der Natur in der freien Alkohol-Form als 2R,4'R,8'R- α -Tocopherol- bzw. RRR- α -Tocopherol-Stereoisomer sowie als Acetat- und Succinat-Ester vor [Jensen und Lauridsen 2007, S. 285]. Auch bei den Tocotrienolen finden sich Ester, bei denen die phenolische Hydroxylgruppe am Chromanring mit Essig- bzw. Bernsteinsäure verestert ist [Combs 2008, S. 182f]. Des Weiteren wird α -Tocopherol synthetisch hergestellt, welches ein Gemisch aus acht Stereoisomeren (freies all-rac- α -Tocopherol sowie all-rac- α -Tocopheryl-Succinat bzw. -Acetat) beinhaltet [Pietrzik et al. 2008, S. 291; Weiser und Vecchi 1981].

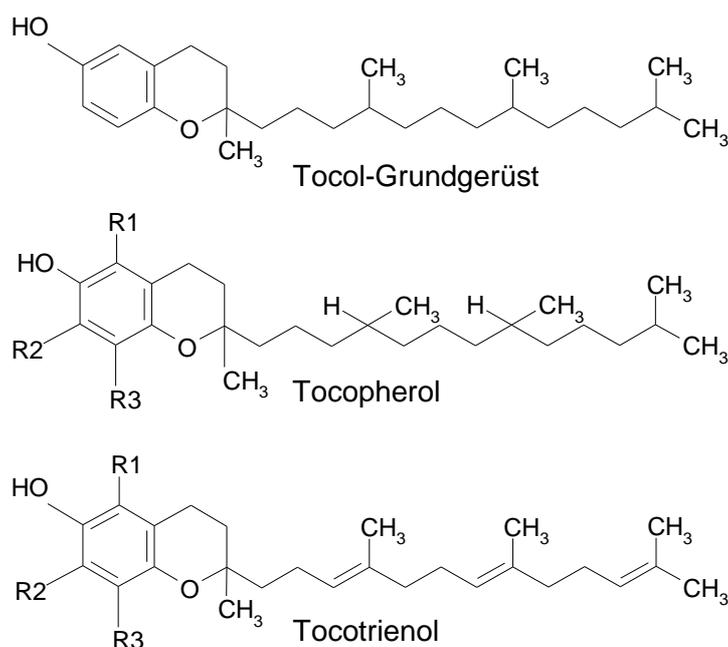


Abbildung 1: Tocol-Grundgerüst, Tocopherol und Tocotrienol

Die einzelnen Derivate weisen quantitativ unterschiedliche biologische Aktivitäten auf, die von der Anzahl der substituierten Methylgruppen abhängen [Hahn et al. 2006, S. 84]. Dabei besitzt RRR- α -Tocopherol, im Vergleich zu allen weiteren natürlich vorkommenden Vitamin-E-Derivaten sowie dem synthetischen all-rac- α -Tocopherol, die höchste biologische Aktivität [Brigelius-Flohé und Traber 1999]. Tabelle 1 zeigt die biologische Aktivität ausgewählter Tocopherole und Tocotrienole im Vergleich zu RRR- α -Tocopherol; die biologische Aktivität wurde im Fertilitätstest von Ratten ermittelt [Weiser und Vecchi 1982].

Tabelle 1: Relative biologische Aktivität ausgewählter Tocopherole und Tocotrienole

Vitamin-E-Derivat	Relative biologische Aktivität [%]
RRR- α -Tocopherol	100
RRR- β -Tocopherol	50
RRR- γ -Tocopherol	10
RRR- δ -Tocopherol	3
RRR- α -Tocotrienol	30
RRR- β -Tocotrienol	5
RRR- γ -Tocotrienol	k. A.
RRR- δ -Tocotrienol	k. A.

k.A.: keine Angaben bzw. nicht bestimmbar

Quelle: Kamal-Eldin und Appelqvist 1996

Die biologische Aktivität der Vitamin-E-Derivate ist nicht mit der antioxidativen Aktivität (vgl. Kapitel 2.4) gleichzusetzen [Stocker 2004]. Zur Standardisierung der biologischen Aktivität der Tocopherolderivate wird der Begriff Tocopherol-Äquivalent (TÄ) verwendet. Dieser hat die bisher übliche Definition der Internationalen Einheiten (IE) abgelöst. Es gelten die folgenden Umrechnungsfaktoren:

1 mg RRR- α -Tocopherol = 1 mg RRR- α -TÄ = 1,49 IE

1 mg RRR- α -Tocopheryl-Acetat = 0,91 mg RRR- α -TÄ = 1,36 IE

1 mg RRR- α -Tocopherylhydrogen-Succinat = 0,81 mg RRR- α -TÄ = 1,21 IE

1 mg all-rac- α -Tocopherol = 0,74 mg RRR- α -TÄ = 1,10 IE

[Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al. 2000, S. 87]

Im Folgenden werden, sofern nicht die spezifische Verbindung genannt wird, unter dem Begriff Vitamin E alle Tocol- und Tocotrienolderivate zusammengefasst. Aus Gründen der besseren Lesbarkeit ist nachfolgend unter der Bezeichnung α -Tocopherol immer das natürlich vorkommende Derivat RRR- α -Tocopherol zu verstehen.

2.2 Vorkommen und Stabilität

Vitamin E wird ausschließlich von einigen Cyanobakterien sowie höheren Pflanzen synthetisiert und ist daher in pflanzlichen Lebensmitteln ubiquitär vorhanden. Über die Nahrungskette kann Vitamin E auch in tierische Nahrungsmittel gelangen. In der Pflanzenwelt sind Tocopherole generell verbreiteter als Tocotrienole [Horvath et al. 2006]. So kommt es praktisch nur bei einkeimblättrigen Pflanzen zur Akkumulation von Tocotrienolen in Samen [Patel et al. 2006]. Aufgrund seiner Funktion als lipophiles Antioxidans (vgl. Kapitel 2.4), haben pflanzliche Öle besonders hohe Gehalte an Vitamin E. Weiterhin für die Ernährung bedeutende Quellen für Vitamin E sind Samen, Nüsse und Getreidekörner [Combs 2008, S. 183f]. In den verschiedenen Lebensmitteln kommen alle Vitamin-E-Derivate in unterschiedlichen Anteilen vor. Nachfolgende Tabelle zeigt die Gehalte und Zusammensetzungen der Vitamin-E-Derivate ausgewählter Nahrungsmittel.

Tabelle 2: Prozentuale Gehalte der Vitamin-E-Derivate in ausgewählten Nahrungsmitteln

	α -T [%]	β -T [%]	γ -T [%]	δ -T [%]	α -T3 [%]	β -T3 [%]	γ -T3 [%]	δ -T3 [%]
Öle								
Maiskeimöl	20	-	70	7	-	-	-	-
Sojabohnenöl	7	-	70	22	-	-	-	-
Sonnenblumenöl	96	4	4	-	-	-	-	-
Weizenkeimöl	47	25	10	-	-	7	-	-
Getreide								
Mais	10	-	75	-	15	-	15	-
Reis	18	-	18	-	30	-	30	-
Weizen	20	15	-	-	10	56	-	-
Gemüse								
Salat	55	-	45	-	-	-	-	-
Spinat	63	-	5	33	-	-	-	-
Tomate	90	10	10	-	-	-	-	-

α -T, β -T, γ -T, δ -T: α -Tocopherol, β -Tocopherol, γ -Tocopherol, δ -Tocopherol

α -T3, β -T3, γ -T3, δ -T3: α -Tocotrienol, β -Tocotrienol, γ -Tocotrienol, δ -Tocotrienol

Quelle: DellaPenna 2005

In der vorliegenden Arbeit wurde RRR- α -Tocopherol als Modellsubstanz genutzt, so dass hier vor allem dessen Gehalt in Lebensmitteln von Interesse ist. Nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick zu den α -Tocopherol-Gehalten ausgewählter Nahrungsmittel.

Tabelle 3: α -Tocopherol-Gehalt ausgewählter Nahrungsmitteln sowie deren Nährstoffdichte

	α -Tocopherol [mg/100g]	Nährstoffdichte [mg/MJ]
Öle und Fette		
Weizenkeimöl	151,0	40,7
Sonnenblumenöl	62,0	16,8
Maiskeimöl	26,0	6,9
Olivenöl	12,0	3,2
Margarine	10,0	3,4
Butter	2,0	0,6
Nüsse		
Mandel	26,0	10,7
Haselnuss	26,0	9,8
Erdnuss	10,0	4,3
Walnuss	1,9	0,7
Getreide		
Weizenkleie	1,6	2,2
Mais	1,5	1,1
Roggen	1,4	1,1
Weizen	1,0	0,8
Haferflocken	0,8	0,5
Gemüse		
Spargel	2,0	26,6
Tomate	0,8	10,9
Möhre	0,4	4,0
Bohnen (grün)	0,1	0,7

Quelle: Souci et al. 2008

Tocopherole sind durch Luftsauerstoff leicht oxidierbar und können durch Peroxyde, Ozon sowie Permanganat denaturiert werden, was durch Sonnenlicht, ultraviolette Strahlung, Hitze, mehrfach ungesättigte Fettsäuren und einige Übergangsmetalle (z.B. Eisen- und Kupfersalze) noch beschleunigt wird. Die Tocotrienole sind aufgrund der drei Doppelbindungen empfindlicher gegenüber Oxidationsprozessen als die Tocopherole. Gegenüber Säuren und Basen sind Tocopherole stabil. Aus der Instabilität der Tocopherole

ergeben sich erhebliche Zubereitungsverluste (ca. 10%) beim Braten, Rösten und Schmoren [Combs 2008, S. 48, 184].

2.3 Kinetik

Im Folgenden wird die Absorption, die Verteilung (vgl. Abbildung 2) sowie der Metabolismus von Vitamin E im humanen Organismus genauer beschrieben. Das im menschlichen Körper vorkommende Vitamin E besteht zu 99% aus α -Tocopherol [Jensen und Lauridsen 2007, S. 282]. Daher wird nachfolgend der Metabolismus von Vitamin E im Allgemeinen und von α -Tocopherol im Speziellen behandelt.

2.3.1 Absorption

Aufgrund des lipophilen Charakters von Vitamin E ist seine Absorption an die Lipidverdauung gekoppelt. Vitamin E wird fast ausschließlich in seiner freien Form als Alkohol absorbiert [Combs 2008, S. 184f]. Daher muss Vitamin E, welches in einer Lebensmittelmatrix gebunden vorliegt, zunächst aus dieser Matrix gelöst werden. Dieses erfolgt im Rahmen der Lipidverdauungsvorgänge in Mund, Magen und Dünndarm. In Mund und Magen beginnt zunächst die mechanische Dispersion durch Kaubewegungen und Magenkontraktionen. Dabei wird die Oberfläche der Fettpartikel vergrößert. Gleichzeitig beginnt durch die linguale und gastrale Lipase eine partielle Hydrolyse der Triacylglyceride. Dabei werden einzelne randständige Fettsäuren abgespalten [Löffler und Mössner 2007, S. 1070]. Vitamin-E-Ester werden zunächst mittels einer pankreatischen Carboxylesterhydrolase hydrolysiert und die dabei entstehenden freien Formen anschließend absorbiert [Lauridsen et al. 2001].

Die eigentliche Absorption der Lipide erfolgt im oberen Dünndarm (Duodenum). Dazu werden die aus dem Magen portionsweise abgegebenen Fetttröpfchen durch Gallensalze und Phospholipide aus der Galle emulgiert. Die Gallensäuren aktivieren außerdem die als Vorstufen sezernierten Pankreaslipasen, die anschließend die Nahrungs-Triacylglyceride spalten. Durch die spontane Bildung gemischter Micellen werden die lipophilen Substanzen und Spaltprodukte solubilisiert. Bei diesem Schritt werden auch die Tocopherole und Tocotrienole in Lösung gebracht, indem sie sich mit Mono- sowie Diglyceriden, freien Fettsäuren, Phospholipiden, Cholesterol und Gallensäuren zu Micellen zusammenschließen. Die Bildung von Micellen erfolgt durch die amphipatischen Eigenschaften der Phospholipide und Gallensäuren, die sich so zusammenlagern, dass sich die polaren Enden zum wässrigen Milieu (Chymus) hin orientieren und die lipophilen Bestandteile im Inneren der Micelle lokalisiert sind. Die Micellen setzen sich an die Mucosaoberfläche und die einzelnen Bestandteile werden mittels passiver Diffusion über die Bürstensaum-

membran in die Mucosazellen aufgenommen, d.h. die Substanzen folgen dem Konzentrationsgradienten [Jones und Kubow 2005, S. 95ff; Traber 2005, S. 399].

Neben der Anwesenheit von Nahrungslipiden sind somit auch Pankreas- und Gallensekret für die Absorption von Vitamin E notwendig. Folglich ist bei einer stark eingeschränkten Fettzufuhr sowie Erkrankungen, die das Pankreas, die Leber oder die Gallenblase betreffen, die Aufnahme von Vitamin E stark herabgesenkt [Nakamura et al. 1996; Traber 2006, S. 399]. Neben diesen Faktoren wird die Quantität der Absorption noch von weiteren beeinflusst (vgl. Kapitel 2.6). Verschiedene Studien und Metaanalysen haben gezeigt, dass die Absorptionsrate bei physiologischer Zufuhr zwischen 10-65% liegt und dosisabhängig ist, d.h. mit steigender Aufnahme sinkt [Cohn et al. 1992; Horwitt et al. 1984; Ikeda et al. 1996; Kelleher und Losowsky 1970].

2.3.2 Verteilung

In Abbildung 2 ist die Verteilung von α -Tocopherol systematisch dargestellt.

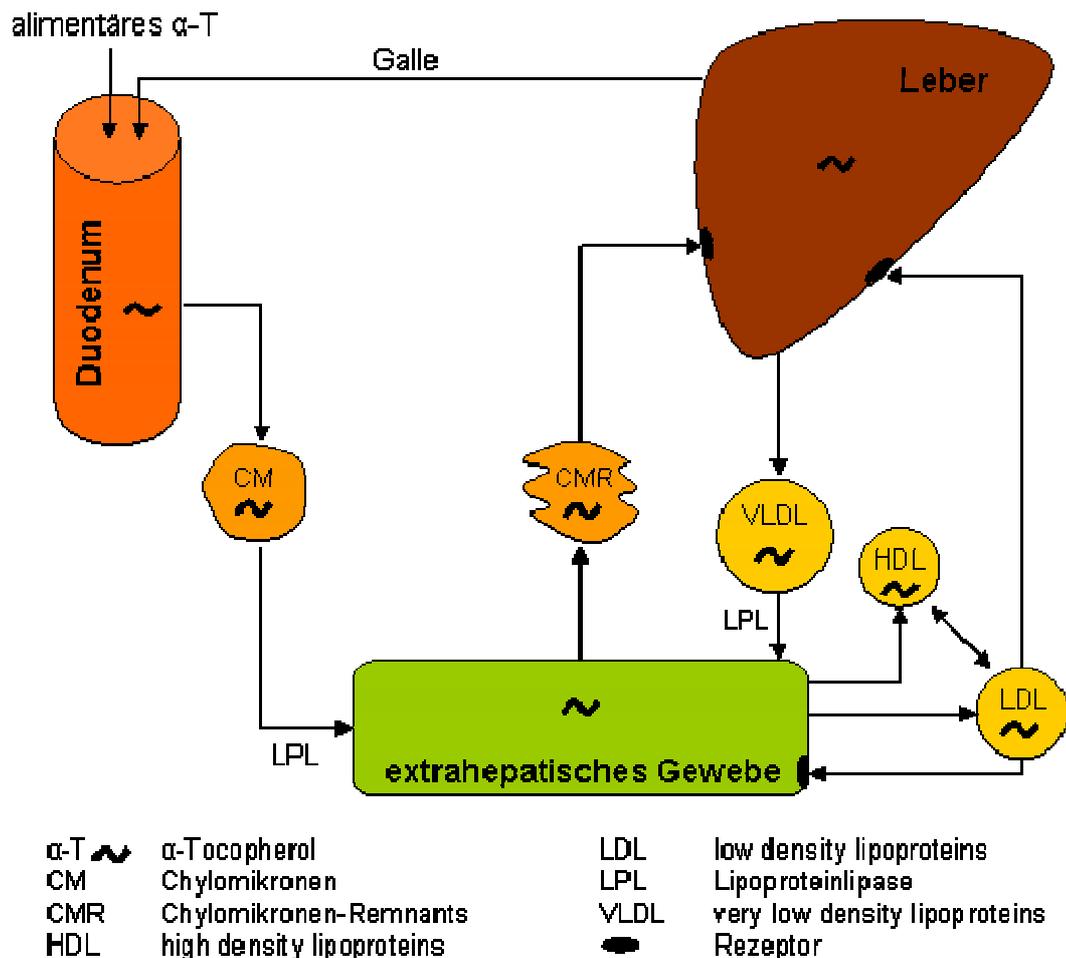


Abbildung 2: Verteilung von α -Tocopherol im menschlichen Körper

Nach der Aufnahme von Vitamin E in die Mucosazellen des Duodenums wird es in die aus Apolipoproteinen, Triacylglyceriden, und Cholesterolderivaten synthetisierten Chylomikronen eingebaut. Diese gelangen mittels Exocytose zunächst in das Lymphsystem und anschließend über die Blutbahn zu den extrahepatischen Geweben (Fettgewebe und Muskulatur) sowie zur Leber. Dabei erfolgt keine Differenzierung zwischen den einzelnen Tocopherol- und Tocotrienolderivaten [Jones und Kubow 2005, S. 100f; Traber 2005, S. 400]. So werden der Pfortader-Kreislauf und die Leber zum größten Teil umgangen, womit sich der First-Pass-Effekt auf eventuelle Umsetzungen im Darmepithel beschränkt [Kübler 2002a]. Die Konzentration von Vitamin E in den Chylomikronen erreicht nach 6-12 Stunden (h) ihr Maximum [Traber et al. 1992]. In den extrahepatischen Geweben wird ein Großteil der Triacylglyceride durch eine membranständige Lipoproteinlipase hydrolysiert und die freien Fettsäuren in die Zellen aufgenommen. Auf diesem Weg gelangt ebenfalls ein Teil des Vitamin E zusammen mit den freien Fettsäuren in die extrahepatischen Gewebe [Traber et al. 1985]. Die sich aus der Lipolyse der Chylomikronen ergebenden Chylomikronen-Remnants gelangen zur Leber, werden dort über einen spezifischen Apolipoprotein-E-Rezeptor aufgenommen und intrazellulär abgebaut [Bjørneboe et al. 1990]. Eine tierexperimentelle Untersuchung hat darauf hingewiesen, dass für Vitamin E ein enterohepatischer Kreislauf denkbar ist. Diese Untersuchungen haben bei biokinetischen Untersuchungen an Ratten einen zweiten Peak in den Serumkonzentration-Zeit-Verläufen gefunden und gehen daher davon aus, dass das Vitamin E nach Aufnahme in die Leber zum Teil über die Galle wieder in den Darm ausgeschieden und anschließend erneut absorbiert wird [Zimmer und Czarnecki 2007].

In der Leber erfolgt eine Differenzierung der einzelnen Vitamin-E-Derivate. Während RRR- α -Tocopherol weiter im Körper zirkuliert, werden die weiteren Tocopherole (β -, γ - und δ -Tocopherol) sowie die Tocotrienole zum größten Teil abgebaut und ausgeschieden. In der Leber konnte ein α -Tocopherol-spezifisches Transportprotein (TTP) nachgewiesen werden [Catignani 1975], das RRR- α -Tocopherol bindet und es zusammen mit Lipoproteinen sehr geringer Dichte (very low density lipoproteins, VLDL) ins Plasma sezerniert [Cohn et al. 1988]. Dabei induziert sowohl α - als auch γ -Tocopherol die Expression der TTP-RNA [Fechner et al. 1998]. Während RRR- α -Tocopherol *in vitro* zu 100% an das TTP gebunden wird, werden in Relation dazu nur wenig RRR- β -Tocopherol (38%), RRR- γ -Tocopherol (9%), RRR- δ -Tocopherol (2%), α -Tocotrienol (12%) und SRR- α -Tocopherol (11%) gebunden [Blatt et al. 2001; Stocker 2004]. Die bevorzugte Bindung von α -Tocopherol an das Transportprotein zeigte sich sowohl in Tierstudien [Traber et al. 1990a] als auch in Humanstudien [Traber et al. 1992] und ist vermutlich auf die im Vergleich zu den anderen Verbindungen deutlich größere Apolarität des Moleküls zurückzuführen. Neben den in der Leber nachgewiesenen TTP konnten diese aus dem Cytosol

des Herzens [Guarnieri et al. 1980], aus der Nebennierenrinde [Kitabchi et al. 1980], aus der Milz und der Lunge von Ratten [Blatt et al. 2001] sowie aus der menschlichen Erythrozytenmembran [Wimalasena et al. 1982] und dem menschlichen Gehirn [Blatt et al. 2001] isoliert werden. Dies erklärt auch die Verteilung von Vitamin E im gesamten Organismus.

Über das TTP hinaus wurden zwei weitere Proteine identifiziert, die an der Regulation der Tocopherol-Plasmaspiegel beteiligt zu sein scheinen. Das α -Tocopherol-assoziierte Protein (TAP) konnte in Rindergeweben und menschlichen Geweben wie Leber, Prostata, Gehirn, Nieren, Milchdrüse oder Magen nachgewiesen werden. Die höchste Konzentration an TAP wies dabei die Leber auf. Außer der Bindung von α -Tocopherol konnte keine weitere Funktion des TAP bestimmt werden. Das α -Tocopherol-Bindungsprotein (TBP) konnte in der Leber von Ratten, im Herzen von Ratten, Hasen und Rindern und der menschlichen Plazenta isoliert werden. *In vitro* transportierte das TBP RRR- α -Tocopherol von den Liposomen zu den Mitochondrien. Eine über die Bindung von α -Tocopherol hinaus gehende Funktion des TBP konnte dabei *in vivo* nicht nachgewiesen werden. Das TAP und das TBP scheinen somit über Bindung des α -Tocopherols die Plasmaspiegel zu regulieren, aber nicht am Transport im Blut oder der Lymphe beteiligt zu sein [Blatt et al. 2001].

Nach Sezernierung der VLDL in das Plasma werden diese von der Lipoproteinlipase in den extrahepatischen Geweben zu Lipoproteinen geringer Dichte (low density lipoproteins, LDL) und Lipoproteinen hoher Dichte (high density lipoproteins, HDL) abgebaut. Bei der Lipolyse der VLDL gelangt wiederum ein Teil des Vitamin E in die extrahepatischen Zellen, wird aber auch aus diesen in die VLDL aufgenommen [Traber 2005, S. 401]. Eine Reihe von Kinetikstudien hat gezeigt, dass speziell RRR- α -Tocopherol schnell aus dem Plasma verschwindet, jedoch nach kurzer Zeit wieder im Plasma in den VLDL erscheint und den Kreislauf erneut durchläuft [Traber et al. 1994]. Im Plasma findet ferner ein Austausch von Vitamin E zwischen den LDL und HDL statt [Traber 2005, S. 401]. Der Mechanismus dieses Austauschs ist noch nicht weiter bekannt, wird jedoch vermutlich mittels bestimmter Plasmaproteine wie dem Phospholipid-Transportprotein und dem Cholesterolester-Transportprotein durchgeführt, die bereits nachgewiesen werden konnten [Hacquebard et al. 2008]. Des Weiteren konnten in mehreren Zelltypen Mechanismen nachgewiesen werden, die eine parallele Aufnahme bzw. Abgabe von Vitamin E und Cholesterol ermöglichen können. Für die Aufnahme ist danach ein Scavenger-Rezeptor B Typ I oder ein LDL-Rezeptor und für die Abgabe ein Adenosin-Triphosphat-Transporter A Typ 1 verantwortlich [Hacquebard und Carpentier 2005].

Neben dem intestinalen Einbau von Vitamin E in die Chylomikronen, die aufgrund der Aufnahme von Triacylglyceriden gebildet werden, scheint es noch eine weitere Möglich-

keit zu geben. In einer Zellstudie konnte gezeigt werden, dass Vitamin E in den Mucosazellen auch in HDL eingebaut wird. Diese sind dann in der Lage das Vitamin E an die weiteren Lipoproteine abzugeben. Dieser Weg kann von Interesse sein, wenn die Chylomikronensynthese gestört ist oder die Fettaufnahme über die Nahrung stark eingeschränkt ist. Dieser Transportweg ist allerdings quantitativ nicht von Bedeutung [Anwar et al. 2007].

2.3.3 Speicherung

Das über die Nahrung aufgenommene Vitamin E, findet sich in allen Körpergeweben, somit gibt es kein spezifisches **Speicherorgan** für Vitamin E. Wie Tabelle 4 zeigt, findet sich der größte Gehalt an α -Tocopherol im Fettgewebe und in den Nebennieren, dagegen weisen die Hypophyse, die Thrombozyten, das Herz sowie Muskulatur und Leber mittlere Konzentrationen auf, während im Plasma und in der Niere geringere Mengen nachgewiesen werden [Machlin und Gabriel 1982].

Tabelle 4: Mittlere α -Tocopherol-Gehalte im Blut und Gewebe gesunder Erwachsener

Gewebe	α -Tocopherol	
	$\mu\text{g/g}$ Gewebe	mg/g Lipide
Fettgewebe	150,0	0,2
Nebenniere	132,0	0,7
Hypophyse	40,0	1,2
Testes	40,0	1,0
Thrombozyten	30,0	1,3
Herz	20,0	0,7
Muskulatur	19,0	0,4
Leber	13,0	0,3
Ovarium	11,0	0,6
Plasma	9,5	1,8
Uterus	9,0	0,7
Niere	7,0	0,3
Erythrozyten	2,3	0,5

Quelle: Machlin und Gabriel 1982

Trotz der großen Reserven im Fettgewebe und der Muskulatur, stellen diese Organe keinen Speicher im eigentlichen Sinn dar. Studien haben gezeigt, dass die Metabolisierungsrate von α -Tocopherol aus den einzelnen Geweben sehr variabel ist und es somit schnell und langsam verfügbare Reserven im menschlichen Körper gibt. So wird

α -Tocopherol in den Erythrozyten der Leber und Milz schnell umgesetzt, während das Herz, die Muskulatur und das Rückenmark langsamere Umsatzraten aufweisen [Machlin und Gabriel 1982].

2.3.4 Metabolismus und Ausscheidung

Die Metabolisierung von Vitamin E erfolgt in der Leber. In seiner Hauptfunktion als Antioxidans (vgl. Kapitel 2.4), wird der Chromanring des α -Tocopherol während der hepatischen Oxidation geöffnet und das Molekül zu einem Radikal metabolisiert. Dieses α -Tocopheryl-Radikal reagiert anschließend mit einem Peroxylradikal zum α -Tocopherylchinon, was wiederum über eine mikrosomale NADPH-abhängige Cytochrom-P-450-Reduktase zum α -Tocopherylhydrochinon reduziert und über die Galle, d.h. mit dem Faezes ausgeschieden wird [Hayashi et al. 1992; Liebler 1993]. Das α -Tocopherylhydrochinon kann außerdem über den Harn eliminiert werden, indem es zur hydrophilen α -Tocopheronsäure und deren Lacton abgebaut wird. Dieser Eliminationsweg ist jedoch quantitativ nicht von Bedeutung, da nur 1% des aufgenommenen Vitamin E auf diesem Weg ausgeschieden wird [Drevon 1991; Simon et al. 1956a; Simon et al. 1956b]. Untersuchungen haben gezeigt, dass die verschiedenen Vitamin-E-Derivate in Abhängigkeit von ihrer Struktur unterschiedlich schnell umgesetzt werden. So weisen die Tocotrienole größere maximale Umsatzraten (V_{\max}) auf, womit sehr viel mehr Tocotrienole als ihre entsprechenden Tocopherol-Derivate umgesetzt werden [Sontag und Parker 2007].

Neuere Untersuchungen haben einen alternativen Metabolisierungsweg aufgezeigt. Bei diesem wird der Chromanring des α -Tocopherol nicht geöffnet, sondern es entsteht das 2,5,7,8-Tetramethyl-2(2'-Carboxyethyl)-6-Hydroxychroman, was als hydrophiler Sulfat-ester oder Glucuronid ebenfalls mit dem Harn ausgeschieden wird. Dieser Abbauweg ist allerdings erst ab einem individuellen Schwellenwert der halbmaximalen Plasmaspiegel von 30-50 μmol α -Tocopherol/l nachweisbar. Die Moleküle scheinen, aufgrund des intakten Chromanrings, nicht an antioxidativen Reaktionen beteiligt zu sein. Beides lässt vermuten, dass die Ausscheidung von 2,5,7,8-Tetramethyl-2(2'-Carboxyethyl)-6-Hydroxychroman als Indikator für eine adäquate bzw. übermäßige Versorgung mit Vitamin E herangezogen werden kann [Kaneko et al. 2000; Schultz et al. 1995; Schultz et al. 1997]. Bei Ratten konnte für γ -Tocopherol ein ähnlicher Metabolisierungsweg nachgewiesen werden. Bei diesem findet sich das 2,7,8-Trimethyl-2(2'-Carboxyethyl)-6-Hydroxychroman, was über den Urin und Galle ausgeschieden wird. Zwischen den Metabolisierungswegen von α - und γ -Tocopherol scheint eine Verbindung zu bestehen, da bei der gleichzeitigen Gabe von α - und γ -Tocopherol die Metabolisierung von γ -Tocopherol beschleunigt wird [Kiyose et al. 2001]. Neben der Ausscheidung von Vitamin-E-Meta-

boliten über Faezes, Galle und Urin gibt es noch einen weiteren Eliminierungsweg über die Haut. Untersuchungen haben gezeigt, dass α -Tocopherol bei dauerhafter Zufuhr auf der Haut nachgewiesen werden kann. Die Ausscheidung erfolgt über die Talgdrüsen, womit Vitamin E als Oxidationsschutz für die kutanen Lipide fungieren kann [Vaule et al. 2004].

2.4 Physiologische Funktionen und präventive Aspekte

Vitamin E erfüllt im Organismus vielfältige Funktionen und übt damit Einfluss auf Zellen, Moleküle und Körperfunktionen aus. Die Hauptfunktion ist dabei seine antioxidative Wirkung. Vitamin E ist das wichtigste lipophile Antioxidans im Körper. Daneben wirkt es auch immunmodulatorisch, antiinflammatorisch, antithrombotisch, antiatherogen, neuroprotektiv und anticancerogen [Packer 1991; Pietrzik et al. 2008, S. 296ff]. Die davon bedeutendsten physiologischen Wirkungen werden nachfolgend genauer beschrieben.

In seiner Funktion als **Antioxidans** dient Vitamin E in erster Linie zum Schutz gegen Lipidperoxidation der mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Zellmembranen sowie den Membranen der Lipoproteine, der Cholesterolpartikel und der Triacylglyceride im Depotfett [Combs 2008, S. 191f]. Die Lipidperoxidation wird durch freie Radikale ausgelöst, die in Geweben mit starkem oxidativen Stoffwechsel (Herzmuskulatur, rote Skelettmuskulatur, Leber) sowie in Zellen mit einem hohen Sauerstoffpartialdruck (Erythrozyten) vermehrt anfallen. Die dabei entstehenden reaktiven Sauerstoffspezies sind vor allem Superoxidradikale ($O_2^{\bullet-}$), Hydroxylradikale (OH^{\bullet}), Wasserstoffperoxyde (H_2O_2) oder Singulett-Sauerstoff (O). Diese können ungesättigte Fettsäuren, Proteine sowie Basen von Nukleinsäuren angreifen und oxidieren [Dröge 2002].

Biologische Zellmembranen bestehen aus einer Phospholipid-Doppelschicht, deren Phospholipide hauptsächlich mehrfach ungesättigte Fettsäuren enthalten [Campbell und Reece 2003, S. 164]. Die Lipidperoxidation dieser Fettsäuren verläuft in einem autokatalytischen Prozess (vgl. Abbildung 3). Bei diesem wird in der Phase der Initiation durch ein Radikal, Hitze, Licht oder bestimmte Enzyme ein Wasserstoffatom abgespalten, wobei ein Alkylradikal entsteht. Dieses reagiert in der Phase der Propagation sehr schnell mit Sauerstoff zu einem Peroxylradikal, welches mit einer weiteren Fettsäure reagiert, wobei wiederum ein Alkylradikal und ein Hydroperoxylradikal entstehen. Somit wird durch ein einzelnes freies Radikal eine Kettenreaktion ausgelöst, deren Reaktionsgeschwindigkeit mit der Anzahl der freien Radikale zunimmt [Kamal-Eldin und Appelqvist 1996].

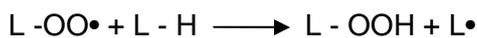
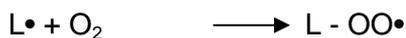
Vitamin E ist in die Zellmembranen eingelagert und kann eine Termination der Kettenreaktion der Lipidperoxidation bewirken, was nachfolgend am Beispiel von

α -Tocopherol dargestellt wird (vgl. Abbildung 3). Bei dem Abbruch der Kettenreaktion gibt α -Tocopherol ein Wasserstoffatom an das Peroxylipidradikal ab, wird dabei selbst zu einem sehr reaktionsträgen Radikal (α -Tocopheryloxylradikal), welches in das stabilere α -Tocopherylchinon übergeht. α -Tocopherol wird somit bei dieser Reaktion verbraucht, sofern es wie nachkommend beschrieben, nicht regeneriert wird. Dieser Zusammenhang erklärt den mit der Aufnahme von mehrfach ungesättigten Fettsäuren korrelierenden Bedarf an Vitamin E [McCay 1985]. α -Tocopherol bildet aufgrund seiner chemischen Struktur ein sehr reaktionsträges Radikal, da sich im Chromanring Einfach- und Doppelbindungen abwechseln. Ein aus einem Radikal (z.B. Peroxylradikal) stammendes Elektron bildet seinerseits mit einem der beiden Elektronen einer Doppelbindung eine stabile Doppelbindung, wobei im Normalfall ein weiteres freies ungepaartes Elektron entsteht. Dieses kann sich aufgrund der sich abwechselnden Einfach und Doppelbindungen im Ringsystem des α -Tocopherols innerhalb des Moleküls bewegen, womit das Elektron an dieses System gebunden wird und damit das aggressive Potential vermindert wird. Dieser Prozess wird als Mesomeristabilisierung bezeichnet [McCord 2000]. Die antioxidative Funktion von α -Tocopherol wurde indirekt durch eine tierexperimentelle Untersuchung bestätigt, die bei Mäusen einen Zusammenhang zwischen einem alimentären Vitamin-E-Mangel und erhöhten oxidativen Stress nachgewiesen hat [Cuddihy et al. 2008].

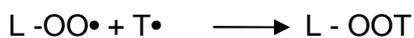
Initiation:



Propagation:



Termination:



H Wasserstoff
I Initiator
L Lipid bzw. Fettsäure
O Sauerstoff
T α -Tocopherol

Abbildung 3: Lipidperoxidation (Initiation und Propagation) und Termination der Lipidperoxidation durch α -Tocopherol, modifiziert nach Schneider [2005]

Die beschriebene Funktion bezieht sich nicht nur auf α -Tocopherol, sondern auf alle Derivate. Eine Studie mit einem Zellmembranmodell einer Phospholipid-Doppelschicht, hat gezeigt, dass sowohl α -Tocopherol als auch α -Tocotrienol ihre antioxidative Wirkung in der Membran entfalten, wobei α -Tocotrienol einen stärkeren Effekt hat [Suzuki et al 1993]. Eine weitere *in-vitro*-Studie konnte zeigen, dass die antioxidative Aktivität der

Vitamin-E-Derivate von der Anzahl und Position der Methylgruppen im Molekül abhängt. Dabei wurde die folgende quantitative Abstufung der antioxidativen Aktivität zwischen den Derivaten bestimmt: $\alpha > \beta < \gamma < \delta$ [Fujisawa und Kadoma 2005]. In einer experimentellen Studie wurden verschiedene Aspekte der antioxidativen Wirkung der Tocopherol- und Tocotrienol-Derivate an Zellmembranen untersucht. Dabei wiesen Tocopherole und Tocotrienole sowohl die gleiche Reaktivität gegenüber Radikalen, als auch die gleiche antioxidative Aktivität gegen Lipidperoxidation auf. Wobei Tocopherole eine signifikant stärkere Erhöhung der Membranstabilität bewirkten als Tocotrienole. Beide Strukturen zeigten die gleiche Beweglichkeit innerhalb der Membranen. Allerdings wurden Tocotrienole verstärkt in die Membranen eingebaut und auch innerhalb der Zellmembranen umgelagert [Yoshida et al. 2003].

Das bei der Termination der Kettenreaktion als Zwischenstufe entstehende α -Tocopheryloxylradikal kann theoretisch als Prooxidans fungieren, indem es als Radikal weitere Radikalbildungen und damit beispielsweise die Lipidperoxidation initiiert. Unter physiologischen Bedingungen ist das α -Tocopheryloxylradikal jedoch reaktionsträge und wird mit Hilfe von Vitamin C (Ascorbat) oder Coenzym Q₁₀ zum α -Tocopherol regeneriert [Brigelius-Flohé und Traber 1999; Itoh et al. 2008]. Dabei gibt Ascorbat bzw. Coenzym Q₁₀ ein Wasserstoffatom an das α -Tocopheryloxylradikal ab und wird damit selbst zum Ascorbat- bzw. Coenzym-Q₁₀-Radikal. Das entstehende Ascorbat- bzw. Coenzym-Q₁₀-Radikal wird in einer NADPH-abhängigen Reaktion mittels einer glutathionhaltigen Reduktase in Dehydroascorbat bzw. Dehydro-Coenzym-Q₁₀ überführt. Beide Verbindungen werden wiederum durch die glutathionhaltige Reduktase zu Ascorbat bzw. Coenzym Q₁₀ reduziert [Amorati et al. 2002; McCay 1985].

Über die antioxidative Wirkung hinaus, erfüllt Vitamin E noch weitere Funktionen, die nachfolgend kurz erläutert werden. Über einen Einfluss von α -Tocopherol auf die Arachidonsäurekaskade sind Effekte auf die Eicosanoidsynthese, d.h. auf **inflammatorische Prozesse**, möglich. Dies geschieht über die in Zellstudien nachgewiesenen Veränderungen der Aktivität der Phospholipase A₂, der Cyclooxygenase und der 5-Lipoxygenase [Chan et al. 1998]. Außerdem kann das im Rahmen der Metabolisierung entstehende α -Tocopherylchinon die Vitamin-K-abhängige Carboxylase hemmen, womit die Blutgerinnung gehemmt wird [Dowd und Zheng 1995]. Eine tierexperimentelle Untersuchung konnte nachweisen, dass eine Formulierung von α -, δ -, und γ -Tocopherol die Inflammation positiv beeinflusst hat, indem die Konzentration an Cytokinen gesenkt wurde [Kuo et al. 2008]. Weiterhin konnten in *in-vivo*-Studien durch Gabe von α -Tocopherol die Spiegel des C-reaktiven-Proteins sowie der proinflammatorischen Cytokine und Interleukine vermindert werden, welche mit der Pathogenese von kardiovaskulären Erkrankungen in Verbindung gebracht werden [Singh und Jialal 2004]. Über eine direkte Wirkung

auf den oxidativen Stress sowie auf die Inflammation kann α -Tocopherol somit indirekt einen **antiatherogenen Effekt** erzielen. Eine Metaanalyse von Violi et al. [2004] hat zahlreiche Beobachtungs- sowie Interventionsstudien ausgewertet und damit die positive Rolle von Vitamin E bei der Atherogenese bestätigt. So wird eine Supplementierung mit Vitamin E zur Prävention von kardiovaskulären Erkrankungen auch von der American Heart Association empfohlen [Gaziano 2004].

Studien haben gezeigt, dass Vitamin E über diverse Mechanismen die Thrombozytenaggregation hemmt, womit der Vasokonstriktion entgegengewirkt wird [Mabile et al. 1999; Williams et al. 1999]. Das in der Gefäßwand befindliche Vitamin E wirkt als Antioxidans den reaktiven Sauerstoffspezies entgegen, die die Stickstoffmonoxid-Freisetzung hemmen und damit die Thrombozytenaggregation fördern würden [Heller et al. 2004]. Außerdem hemmt α -Tocopherol die Proteinkinase C, wodurch die Proliferation der glatten Muskelzellen der Blutgefäße gehemmt wird [Boscoboinik et al. 1994]. Des Weiteren kann damit die Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies durch die Monozyten gehemmt werden, wie eine Zellstudie gezeigt hat [Cachia et al. 1998]. Diese Effekte scheinen spezifisch für α -Tocopherol zu sein, da keine vergleichbaren für β -Tocopherol nachgewiesen werden konnten [Boscoboinik et al. 1994]. Darüber hinaus zeigten Human- sowie Tierstudien, dass α -Tocopherol die Lipidperoxidation sowie die Superoxidproduktion über eine Verminderung der Synthese der NADPH-abhängigen Oxidase verringert. Des Weiteren hemmt es die Ausschüttung des Fibrinolysehemmers Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI-1) [Singh et al. 2005].

Ein weiterer antiatherogener Effekt von Vitamin E liegt darin begründet, dass es als Antioxidans auch die LDL-Partikel vor Oxidation schützt. Oxidiertes LDL gilt nach der Response-to-Injury-Hypothese als ein Risikofaktor in der Pathogenese der Atherosklerose [Ross 1999]. Sowohl in Zellstudien [Mabile et al. 1999] als auch in Interventionsstudien am Menschen [Jialal et al. 1995] wurde nachgewiesen, dass α -Tocopherol die Oxidationsanfälligkeit von LDL senkt, da Vitamin E auch in den Zellmembranen der LDL-Partikel die Kettenreaktion der Lipidperoxidation unterbricht [Kagan et al. 1992]. *In-vitro*-Studien konnten nachweisen, dass durch die Zugabe von α -Tocopherol die Latenzphase der durch Cu^{2+} induzierten Oxidation der LDL-Partikel verzögert [Bron und Asmis 2001] sowie die Oxidierbarkeit der LDL-Partikel konzentrationsabhängig vermindert wird [Gey 1998; Mortensen et al. 2001; Stocker 1999]. Dabei erwies sich der Gehalt der Lipoproteine an Vitamin E als stärkster Prädiktor für die Widerstandsfähigkeit gegenüber der Oxidation *ex vivo* [Porkkala-Sarataho et al. 1996]. Die Bedeutung von Vitamin E zum Schutz der LDL-Partikel vor Oxidation wurde durch eine Interventionsstudie bestätigt, bei der eine signifikant lineare Beziehung zwischen der Höhe des supplementierten Vitamin E und der Stärke der Resistenz der LDL-Partikel gegenüber der Oxidation nachgewiesen wurde

[Princen et al. 1995]. Nach der aktuellen Literatur, scheint eine tägliche Zufuhr von 15-30 mg TÄ das Risiko für koronare Herzerkrankungen zu senken. Zur Progression der Atherosklerose (Sekundärprävention) sollten täglich und langfristig ca. 400 IE RRR- α -Tocopherol und 500 mg Vitamin C eingenommen werden [Meydani 2004].

Die chemische Carcinogenese wird mit dem Angriff freier Radikale auf die DNA in Verbindung gebracht [Valko et al. 2006]. Somit ist es denkbar, dass Vitamin E als lipophiles Antioxidans auch eine **anticancerogene Wirkung** erfüllt. Die bisher vorliegenden Studien sind in erster Linie Zellstudien. Hierbei konnten für γ -Tocopherol und α -Tocopheryl-Succinat stärkere Effekte auf Tumorzellen nachgewiesen werden als für α -Tocopherol. Der anticancerogene Effekt wurde anhand von Zellwachstum, Proliferation der Zellen, Apoptose und Enzymaktivitäten bestimmt [Galli et al. 2004; Gysin et al. 2002; Schneider 2005]. Des Weiteren hat eine Zellstudie gezeigt, dass Tocotrienole ein größeres anticancerogenes Potential aufweisen als Tocopherole [McIntyre et al. 2000]. Dagegen konnte eine Tierstudie an Ratten weder anticancerogene Effekte von Tocopherolen noch von Tocotrienolen nachweisen [Gould et al. 1991]. Eine placebo-kontrollierte Interventionsstudie, hat den Effekt von 50 mg α -Tocopherol, 20 mg β -Carotin oder Placebo bei 29133 männlichen Rauchern (50-69 Jahre) über eine Zeit von 5-8 Jahren auf die Inzidenz von kolorektalen Karzinomen untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Inzidenz in der α -Tocopherol-Gruppe geringer ($p=0,150$) war als in der Placebogruppe. Zwischen der β -Carotin- und der Placebogruppe war kein Unterschied in der Inzidenz feststellbar. Die chronische Gabe von α -Tocopherol scheint somit einen positiven Effekt auf die Inzidenz von kolorektalem Karzinom zu haben [Albanes et al. 2000]. Die vorliegende Datenlage zur anticancerogenen Wirkung von Vitamin E weist insgesamt kein einheitliches Bild auf; vor allem fehlen für eine abschließende Beurteilung weitere tierexperimentelle Studien und Interventionsstudien am Menschen.

Die vielfältigen physiologischen Funktionen von Vitamin E stehen im Zusammenhang mit seinen möglichen **präventiven Aspekten**. Hier stehen die Prävention von kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes Mellitus und Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises im Vordergrund. Erstere (kardiovaskuläre Erkrankungen und Diabetes Mellitus), sind im Zusammenhang mit der antioxidativen Funktion und letztere (Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises), mit der antiinflammatorische Wirkung von Vitamin E zu sehen.

Wie vorab beschrieben gilt oxidiertes LDL als einer der entscheidenden Faktoren bei der Pathogenese der Atherosklerose. LDL-Partikel enthalten neben einem hohen Anteil an Cholesterol und Phospholipiden auch Triacylglyceride, die wiederum einen bestimmten Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (poly unsaturated fatty acids, PUFA), vor allem Linol-, Arachidon- und Docosahexaensäure, enthalten. Des Weiteren werden in den

LDL antioxidative Schutzfaktoren wie α -Tocopherol, γ -Tocopherol, β -Carotin, Lycopin, α -Carotin, Zeaxanthin, Cryptoxanthin und Phytofluoren transportiert. Die Gehalte der einzelnen Faktoren sind individuell unterschiedlich [Esterbauer et al. 1990]. In einer Interventionsstudie konnte nachgewiesen werden, dass eine Supplementation mit α -Tocopherol (75 mg/Tag bzw. 400 mg/Tag) dessen Gehalt in den LDL-Partikeln erhöht und eine signifikant niedrigere Anfälligkeit der LDL gegenüber oxidativer Schädigung bewirkt [Dieber-Rotheneder et al. 1991]. Eine weitere Interventionsstudie mit α -Tocopherol-Gaben von 60, 200, 400, 800 und 1200 mg/Tag bestätigte dies. Hier nahm die Oxidationsanfälligkeit der LDL mit steigender Dosierung von α -Tocopherol ab. Ab einer Dosierung von 400 mg/Tag wurde die LDL-Oxidation signifikant gesenkt [Jialal et al. 1995]. Der tägliche Verzehr von ≥ 400 mg α -Tocopherol kann somit die Oxidation der LDL-Partikel senken und damit zu Prävention von Atherosklerose beitragen. Allerdings gibt es Hinweise darauf, dass α -Tocopherol in den LDL auch als Prooxidans fungieren kann. Kalyanaraman und Kollegen [1995] postulieren, dass das bei dem Abbruch der Kettenreaktion der Lipidperoxidation entstehende α -Tocopherylradikal die Kettenreaktion wiederum initiieren kann, wenn es nicht regeneriert wird. Obwohl die Oxidation der LDL-Partikel ein initialer Schritt in der Pathogenese der Atherosklerose darstellt und in den LDL α -Tocopherol als Antioxidans enthalten ist, leistet Vitamin E wahrscheinlich nur einen Beitrag in der Prävention der Atherosklerose [Janero 1991]. Dies wird auch in den Ergebnissen einer Metaanalyse deutlich, die die Daten von sieben großen randomisierten, kontrollierten Studien ausgewertet hat. In die Untersuchungen waren jeweils >1000 Personen über 1,4 bis 12 Jahre eingeschlossen. Die Dosierungen variierten dabei von 50-800 mg Vitamin E/Tag. Die Daten zeigten, dass der Verzehr von Vitamin E keinen signifikanten Effekt auf die Mortalität sowie auf die Senkung des Risikos für kardiovaskulären Tod und Apoplex hatte [Vivekananthan et al. 2003].

In Zusammenhang mit Diabetes Mellitus kann Vitamin E als lipophiles Antioxidans den oxidativen Stress der erkrankten Personen verringern. Oxidativer Stress wird unter anderem als Ursache für diabetische vaskuläre Veränderungen, wie die diabetische Mikroangiopathie verantwortlich gemacht [Wiernsperger 2003]. Darüber hinaus konnte in Zellstudien, im Tierversuch sowie in Untersuchungen am Menschen gezeigt werden, dass durch Vitamin E die durch die Diabetes-Erkrankung induzierten hohen Konzentrationen an Proteinkinase C gesenkt werden [Bursell und King 1999]. Ebenfalls wurde im Tierversuch die renale Funktion von diabetischen Ratten durch α -Tocopherol aufrechterhalten [Nascimento Gomes et al. 2005].

Wie beschrieben kann Vitamin E auf inflammatorische Prozesse einwirken. Die entzündlichen Reaktionen bei Erkrankungen des rheumatoiden Formenkreises werden durch immunologische Vorgänge hervorgerufen [Adam 2004, S. 575]. Studien mit

Rheumapatienten haben gezeigt, dass die Vitamin-E-Plasmaspiegel sowie dessen Konzentration in der Gelenkflüssigkeit gegenüber Gesunden deutlich erniedrigt sind. Rheumatiker scheinen somit einen erhöhten Grundbedarf aufzuweisen [Fairburn et al. 1992]. Vitamin E hemmt die Radikalentstehung bei bestehender Entzündung und wirkt wie beschrieben der Lipidperoxidation und Oxidation anderer Moleküle entgegen [Brigelius-Flohé und Traber 1999]. Des Weiteren wird die Phospholipase-A₂-Aktivität gehemmt und die Bildung von Eicosanoiden aus Arachidonsäure gehemmt [Azzi und Stocker 2002]. Durch eine Inhibierung der Lipoxygenase wird der hemmende Effekt auf die Eicosanoidsynthese noch verstärkt [Darlington und Stone 2001]. Diese antiinflammatorischen Effekte von Vitamin E führen dahin, dass die Gabe von Vitamin E einen Beitrag zur Therapie von Erkrankungen des rheumatoiden Formenkreises haben kann. Dies wird durch eine Metaanalyse teilweise bestätigt, bei der durch eine hoch dosierte Gabe von Vitamin E eine Verbesserung der Beweglichkeit sowie eine Schmerzlinderung erzielt werden konnte [Sangha und Stucki 1998].

2.5 Bedarf, Status, Mangel und Toxizität

Der **Bedarf** an Vitamin E ist positiv korreliert zu der Höhe der Zufuhr an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, da es in erster Linie als Schutz vor Lipidperoxidation fungiert [Horwitt 1960]. Derzeit wird geschätzt, dass zum Schutz von 1 g Linolsäure aus der Nahrung etwa 0,4 mg TÄ notwendig sind [Witting und Lee 1975]. Zum Schutz der Doppelbindungen in den Monoen-, Dien-, Trien-, Tetraen-, Pentaen-, und Hexaenfettsäuren ergeben sich pro entsprechender Fettsäure Bedarfsmengen von 0,06; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 und 1,2 mg TÄ [Horwitt 1974]. Bei den Empfehlungen für eine ausreichende Zufuhr werden daher die Richtwerte für die durchschnittliche Zufuhr an Fett sowie die prozentuale Aufteilung der Fettsäuren in der Kost zuzüglich dem Grundbedarf an Vitamin E berücksichtigt [Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al. 2000, S. 90]. Grundsätzlich wird davon ausgegangen, dass es bei einer Zufuhr an Vitamin E unter dem Bedarf zu einer verstärkten Lipidperoxidation kommt [Horwitt 1974]. Die Höhe des Grundbedarfs an Vitamin E ist noch in der Diskussion. Einerseits wird ein Grundbedarf von 6 mg TÄ/Tag genannt, der sich aus der Anzahl der bei den Stoffwechselfvorgängen im Körper gebildeten Doppelbindungen ergibt. Andererseits werden 8 mg TÄ/Tag als unterer Grenzwert genannt, wenn davon ausgegangen wird, dass nur mäßig mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit der Nahrung aufgenommen werden und damit weniger Lipidperoxidation im Körper stattfindet [Horwitt 1986]. Die Höhe des täglichen Bedarfs an Vitamin E ist noch immer in der Diskussion, da die Datenlage nicht eindeutig ist. Vor diesem Hintergrund gibt die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) nur Schätzwerte und keine Richtwerte heraus [Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al. 2000, S. 9]. In

Tabelle 5 sind die in dieser Arbeit zugrunde gelegten in Deutschland üblichen Empfehlungen aufgeführt.

Tabelle 5: Schätzwerte für eine angemessene Zufuhr an Vitamin E für Erwachsene

Alter	Tocopherol [mg TÄ/Tag]	
	Männer	Frauen
15 – 19 Jahre	15	12
19 – 25 Jahre	15	12
25 – 51 Jahre	14	12
51 – 65 Jahre	13	12
> 65 Jahre	12	11

TÄ: Tocopherol-Äquivalent

Quelle: Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al. 2000, S. 87

In Deutschland wird die empfohlene Zufuhr an Vitamin E laut dem Ernährungsbericht von der durchschnittlichen Bevölkerung erreicht. Der Ernährungsbericht wird vom Bundesministerium für Ernährung und Verbraucherschutz in Auftrag gegeben. Nach diesem liegt die mittlere tägliche Zufuhrmenge an Vitamin E bei männlichen und weiblichen Personen jeder Altersstufe über dem Schätzwert für eine angemessene Zufuhr der DGE. Nur männliche Personen im Alter zwischen 10-13 Jahren liegen mit durchschnittlich 11,8 mg TÄ/Tag knapp unter der Empfehlung von 13 mg TÄ/Tag [Deutsche Gesellschaft für Ernährung 2004, S. 38f]. Diesen Daten widersprechen den Ergebnissen des German Nutrition Survey (GeNuS) von 1998, bei dem der Ernährungsstatus von 4030 Personen im Alter von 18-79 Jahren erhoben wurde. Hier lagen im Durchschnitt sowohl die Männer (11,9 mg/Tag) als auch die Frauen (10,33 mg/Tag) unter der empfohlenen Zufuhr. Auch unter Berücksichtigung der Aufnahme über Nährstoffsupplemente (Männer 12,5 mg/Tag; Frauen 11,0 mg/Tag), wurden die Empfehlungen im Durchschnitt nicht erreicht [Beitz et al. 2002]. Bei den Ergebnissen des GeNuS ist zu berücksichtigen, dass diese eine große Altersspanne beschreiben und die Ergebnisse in den einzelnen Altersklassen davon abweichen können. Des Weiteren hat der National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES, 1999-2000) ermittelt, dass in den USA die durchschnittliche Zufuhr an α -Tocopherol bei den Erwachsenen (> 19 Jahren) mit 7,8 mg/Tag für Männer und 6,3 mg/Tag für Frauen weit unter dem Dietary Reference Intakes (DRI) von 15 mg/Tag liegt [Ahuja et al. 2004; Food and Nutrition Board 2000, S. 507].

Zur Bestimmung des **Vitamin-E-Status** werden üblicherweise die Plasmakonzentrationen an α -Tocopherol herangezogen. Bei gesunden Erwachsenen liegen die Plasmaspiegel bei

11-37 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 5-16 mg/l [Cohn 1997] oder $>1,1 \mu\text{mol/mmol}$ Gesamtlipide bzw. $>0,8 \mu\text{g/mg}$ Gesamtlipide [Pietrzik et al. 2008, S. 295]. Zwischen dem Vitamin-E-Plasmaspiegel und den verschiedenen Blutlipidfraktionen besteht eine enge Korrelation. Wird der Einfluss dieser Störvariablen bei der Bewertung der Messwerte nicht durch eine Adjustierung berücksichtigt, kann dies zu Fehlbeurteilungen führen. Das bedeutet, dass bei Patienten mit einer Hypolipidämie und niedrigen Vitamin-E-Plasma-Konzentrationen nicht unbedingt ein Vitamin-E-Mangel vorliegen muss und bei Patienten mit einer Hyperlipidämie und erhöhten Plasmaspiegeln an Vitamin E trotzdem ein Mangel bestehen kann. In einer Untersuchung von elf Kindern mit einer diagnostizierten Cholestase und einem dadurch bedingten Vitamin-E-Mangel, wiesen diese Vitamin-E-Plasma-Konzentrationen im normalen Bereich auf [Sokol et al. 1984]. In einer Querschnittsstudie wurden von 862 Männern und 1144 Frauen im Alter von 18-88 Jahren die verschiedenen Lipidfraktionen im Plasma und den α -Tocopherol-Konzentrationen miteinander korreliert. Die berechneten Spearman-Korrelationskoeffizienten (r_s) haben ergeben, dass die Gesamtcholesterol-Konzentration im Serum den stärksten (Männer: $r_s=0,66$; Frauen: $r_s=0,73$; $p \leq 0,0001$) und die Gesamtlipid-Konzentration (geschätzt aus der Summe aus Triacylglycerid- und Gesamtcholesterol-Konzentration) einen ähnlich starken Einfluss (Männer: $r_s=0,69$; Frauen: $r_s=0,69$; $p \leq 0,0001$) auf die α -Tocopherol-Konzentration ausübt [Heseker et al. 1993]. Daher sollte die Beurteilung der Vitamin-E-Plasmakonzentration in Relation zu den Gesamtcholesterol- sowie Gesamtlipid-Konzentrationen bzw. zu der Summe aus Gesamtcholesterol- und Gesamt-Triacylglycerid-Konzentration vorgenommen werden [Horwitt et al. 1972; Thurnham et al. 1986; Heseker et al. 1993]. Neben der Plasmakonzentration kann auch die Konzentration an Vitamin E im Fettgewebe bestimmt werden, hierbei gelten Konzentrationen von $>100 \mu\text{g/mg}$ Triacylglyceride aus dem Fettgewebe als Normalwerte [Traber 2006, S. 408].

Als **Mangel** an Vitamin E gelten Plasmaspiegel von weniger als $11,6 \mu\text{mol/l}$ bzw. 5 mg/l oder $1,1 \mu\text{mol/mmol}$ Gesamtlipide bzw. $0,8 \text{ mg/g}$ Gesamtlipide [Pietrzik et al. 2008, S. 295]. Generell ist ein Mangel an Vitamin E, bei der üblichen Ernährungsweise aufgrund des ubiquitären Vorkommens in Nahrungsmitteln nicht zu erwarten [Traber 2006, S. 404]. Mangelerscheinungen können dennoch durch eine Mutation des α -Tocopherol-Transportproteins, eine genetisch bedingte Störung der Lipoproteinsynthese, eine Lipidmalabsorption und bei parenteraler Ernährung auftreten [Traber 2006, S. 404f]. Eine Mutation des für das hepatische α -Tocopherol-Transportproteins kodierende Gens konnte bisher nur in etwa 100 Fällen beschrieben werden [Cavalier et al. 1998]. Eine Lipidmalabsorption ist in der Regel durch eine chronische gastrointestinale Erkrankung wie chronischer Pankreatitis, zystischer Fibrose, Cholestase oder chronisch entzündliche Darmerkrankungen bedingt. Die bei der parenteralen Ernährung eingesetzten Nährstofflösungen

sind häufig mit Sojaöl hergestellt, welches hohe Gehalte an γ -Tocopherol und nahezu kein α -Tocopherol enthält. Daher können bei Patienten, die parenteral ernährt werden, Defizite in der Versorgung mit α -Tocopherol auftreten [Traber 2006, S. 405].

Im Mangel sinkt zunächst die Plasmakonzentration, was zunächst noch keine Einschränkungen der Körperfunktionen bewirkt. Sinken die Plasmaspiegel weiter ab, häufen sich vermehrt oxidativ wirksame Abbauprodukte im Blut und es kommt zur Lipidperoxidation der Erythrozytenmembranen und damit zur Hämolyse [Horwitt et al. 1963; Rose und György 1952]. Bei Plasmakonzentrationen von $9,3 \mu\text{mol/l}$ α -Tocopherol/dl bzw. $0,4 \text{ mg}$ α -Tocopherol/dl ist eine Hämolyse bereits nachweisbar und das Risiko steigt mit abnehmenden Plasmaspiegeln an [Horwitt 1972].

Vitamin E weist bei oraler Aufnahme eine geringe **Toxizität** auf. Dosierungen bis zu 727 mg α -Tocopherol/Tag über vier Monate ergaben keinen negativen Effekte [Meydani et al. 1998]. Selbst bei höheren Dosen von 3200 mg α -Tocopheryl-Succinat über neun Wochen gaben nur vier von 18 Probanden gastrointestinale Störungen (Darmkrämpfe, Diarrhoe) an [Anderson und Reid 1974]. Dagegen haben Gaben von 1600 mg/Tag über sieben Tage die Thrombozytensynthese gesenkt, was zu Störungen der Thrombozytenaggregation führen kann [FitzGerald und Brash 1982]. Des Weiteren können Dosen von 1200 mg/Tag zu einer Verlängerung der Blutungszeit führen, was in der Interaktion von Vitamin E mit dem Vitamin-K-Stoffwechsel begründet ist [Bendich und Machlin 1988]. Offiziell ist der Tolerable Upper Intake Level (UL) für Erwachsene für α -Tocopherol bei 1000 mg/Tag festgelegt. Der UL ist nach den Dietary Reference Intakes definiert als höchste tägliche Zufuhr eines Nahrungsbestandteils, die bei dauerhafter Zufuhr keinen gesundheitlich nachteiligen Einfluss auf die Gesamtbevölkerung hat [Food and Nutrition Board 2000, S. 249ff]. Andererseits hat eine Metaanalyse von Untersuchungen an Personen mit chronischen Erkrankungen gezeigt, dass eine hochdosierte Aufnahme von $\geq 400 \text{ IE}$ die Gesamtmortalität erhöhen kann [Miller et al. 2005]. Somit sollte bei chronischen Erkrankungen eine langfristige Aufnahme von 400 IE Vitamin E pro Tag nicht überschritten werden.

2.6 Bioverfügbarkeit

Der Begriff der Bioverfügbarkeit ist der experimentellen Pharmakologie entliehen. Dabei beschäftigt sich die Pharmakokinetik mit der Freisetzung, Absorption, Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung von Pharmaka und anderen Substanzen. Die Bioverfügbarkeit selbst gibt an, in welchem Ausmaß und in welcher Geschwindigkeit ein Wirkstoff an seinen Wirkort gelangt [Dost 1968, S. XVIIIf]. Dabei beschreibt die Fläche unter der Plasmakonzentration-Zeit-Kurve (area under the concentration/time curve, AUC)

das Ausmaß der Absorption, während die maximale Plasma- bzw. Serumkonzentration (c_{\max}) sowie die Zeit bis zum Erreichen von c_{\max} (t_{\max}) die Rate der Absorption kennzeichnet [Steinijans und Diletti 1983].

In welchem Maße das mit der Nahrung zugeführte Vitamin E im Gastrointestinaltrakt absorbiert wird und in die Blutbahn bzw. zu den Zielzellen gelangt, hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab, die nachfolgend genauer dargestellt werden:

- Dosis
- Vitamin-E-Derivat
- Plasmalipidstatus
- Genetik
- Lebensstil (Bsp. Rauchen)
- Ernährung

2.6.1 Einflussfaktor Dosis

Die Höhe der Absorption von Vitamin E steht in linearer Beziehung zur verabreichten Dosis. Dabei ist die Absorptionsrate nicht unendlich steigerbar sondern bleibt ab einer gewissen Dosis konstant auf einem Niveau [Hoppe und Kennrich 2000]. In einer Kinetik über 96 h von Traber und Kollegen [1998a] wurden sechs gesunden Probanden drei Dosierungen RRR- α -Tocopheryl-Acetat (15 mg, 75 mg, 150 mg) im Abstand von zwei Wochen verabreicht. Die Plasmaspiegel stiegen signifikant ($p < 0,001$) mit der verabreichten Dosis an. Eine Langzeitkinetik mit acht Probanden ergab die gleiche Beziehung. Hier bestand eine positive Korrelation zwischen der Höhe der α -Tocopherol-Gabe (60, 200, 400, 800 und 1200 mg/Tag) und den Plasmaspiegeln. Der Anstieg zwischen der 60 mg und der 1200 mg Dosierung war signifikant ($p < 0,010$) [Jialal et al. 1995]. Eine weitere Langzeitkinetik bestätigte ebenfalls, dass die Absorptionsrate von der Höhe der Dosierung abhängt. Jedoch ist die Resorption von α -Tocopherol ein saturabler Prozess, da nach 4-5 Tagen die Plasmakonzentrationen konstant blieben [Dimitrov et al. 1991].

2.6.2 Einflussfaktor Vitamin-E-Derivat

Als Vitamin E werden alle Tocopherole und Tocotrienole bezeichnet, zu denen wiederum die freien Formen sowie die Succinat-, und Acetat-Ester zählen (vgl. Kapitel 2.1). Unter den Vitamin-E-Derivaten wird generell zwischen den natürlich vorkommenden und den synthetisch hergestellten unterschieden.

Die derzeitige Literatur zeigt, dass das natürliche α -Tocopherol eine bessere Bioverfügbarkeit aufweist als das synthetische freie α -Tocopherol sowie das α -Tocopheryl-Acetat. Dabei waren die resultierenden Plasmaspiegel der natürlichen Form bis zu zweimal höher als die des synthetischen Vitamin E [Acuff et al. 1994; Burton et al. 1998; Proteggente et al. 2005]. Das ist nicht durch eine bessere Absorptionsrate sondern durch eine bevorzugte Anreicherung von RRR- α -Tocopherol in den Lipoproteinen und Zielzellen bedingt. Bei einer weiteren Biokinetikstudie [Traber et al. 1990b] wiesen die Probanden nach oraler Aufnahme zwar gleichwertige Plasmakonzentrationen an synthetischem und natürlichem α -Tocopherol auf; bei der Aufnahme in VLDL, HDL, LDL und Erythrozyten wurde das natürliche RRR- α -Tocopherol jedoch bevorzugt. Dies wurde durch eine tierexperimentelle Untersuchung bestätigt, bei der RRR- α -Tocopherol bevorzugt in sämtliche Gewebe von Ratten aufgenommen wurden [Ingold et al. 1987], was auch dadurch bedingt wird, dass die synthetische Form bevorzugt metabolisiert und ausgeschieden wird, wie Traber et al. [1998b] im Humanversuch zeigen konnten. Auch eine Tierstudie an Kälbern konnte zeigen, dass von RRR- α -Tocopheryl-Acetat zweimal mehr absorbiert wurde als von all-rac-Tocopheryl-Acetat [Weiss et al. 2009].

Bezüglich der Bioverfügbarkeit von Tocopherolen gegenüber der von Tocotrienolen gibt es keine einheitliche Datenlage. Während in einer experimentellen Studie mit hepatischen G2-Zellen Tocopherole und Tocotrienole gleichwertig von diesen aufgenommen wurden [Birringer et al. 2002], konnte in einer Zellstudie gezeigt werden, dass Tocotrienole von intestinalen Caco2-Zellen vermehrt resorbiert werden [Tsuzuki et al. 2007]. Tierexperimentelle Studien haben eine höhere Absorption von γ -Tocotrienol gegenüber α -Tocopherol nachweisen können [Ikeda et al. 1996; Tsuzuki et al. 2007]. Dagegen wurde in einer Humanstudie mit 14 gesunden Probanden mehr α -Tocopherol (81-100%) als α -, δ - und γ -Tocotrienol absorbiert und in die Lipoproteine sowie in die Leber aufgenommen [Hayes et al. 1993].

Auch die Studienergebnisse zur Absorption von freiem Vitamin E im Vergleich zwischen Vitamin-E-Acetat und -Succinat sind widersprüchlich. Bei einer Tierstudie mit synthetischem Vitamin E konnte das Acetat stärker absorbiert werden als das Succinat [Jensen et al. 1999]. Wohingegen im Humanversuch keine Unterschiede in der Aufnahme zwischen dem natürlichen Acetat, dem Succinat und der freien Form nachgewiesen werden konnten [Cheeseman et al. 1995].

Beim Vergleich aller Vitamin-E-Derivate zeichnet sich ab, dass RRR- α -Tocopherol bevorzugt vom Körper aufgenommen und zu den Zielzellen transportiert wird. So konnte *in vitro* nachgewiesen werden, dass das hepatische Transportprotein für die verschiedenen Derivate eine relative Affinität für RRR- α -Tocopherol von 100%; β -Tocopherol, 38%; γ -Tocopherol, 9%; α -Tocotrienol, 12%; all-rac- α -Tocopherol, 11%;

δ -Tocopherol, 2%; α -Tocopheryl-Acetat, 2%; aufweist [Hosomi et al. 1997]. Der bevorzugte Transport von α -Tocopherol zu den Zielzellen zeigt sich darüber hinaus in Studien, die nachgewiesen haben, dass eine Supplementierung mit α -Tocopherol die Plasmakonzentrationen von γ - und δ -Tocopherol sinken lässt. Diese Ergebnisse fanden sich sowohl in einer tierexperimentellen Untersuchung [Ikeda et al. 2003] als auch in Humanstudien [Eichhorn et al. 2004; Huang und Appel 2003; Wolf 2006]. Dies liegt zum einen in der größeren Affinität des hepatischen Transportproteins und zum anderen in einer verstärkten Metabolisierung von γ -Tocopherol begründet, wie eine Kinetikuntersuchung an fünf Personen gezeigt hat [Wolf 2006]. Die Metabolisierungsrate von δ -Tocopherol wurde bisher nicht experimentell untersucht.

Das Vitamin E wird als fettlösliches Vitamin im Rahmen der Fettverdauung absorbiert. Eine logische Konsequenz daraus ist, dass die fettlösliche Form von Vitamin E gegenüber einer wasserlöslichen Form bevorzugt absorbiert wird [Dimitrov et al. 1996]. Daher sollten Verabreichungen von Vitamin E immer in lipidlöslicher Form und zusammen mit Fett erfolgen, um eine hohe Bioverfügbarkeit zu gewährleisten.

Darüber hinaus ist die Höhe der Absorption des Vitamin E abhängig von der Nahrungsquelle, aus der es gewonnen wurde. Eine tierexperimentelle Untersuchung konnte nachweisen, dass bei Mäusen α -Tocopherol aus Thunfisch eine höhere Bioverfügbarkeit aufweist als aus Maiskeimöl. Dies scheint durch die Struktur bedingt zu sein, da das α -Tocopherol des Thunfisches im Gegensatz zu dem α -Tocopherol aus Maiskeimöl am Ende der isoprenoiden Seitenkette eine Doppelbindung aufweist, die den Autoren nach bevorzugt in Micellen verpackt und von den Mucosazellen aufgenommen wird [Gotoh et al. 2009].

Insgesamt ist davon auszugehen, dass von natürlich vorkommenden Derivaten mehr absorbiert wird als von synthetischen. Außerdem weist von allen Vitamin-E-Formen das RRR- α -Tocopherol die größte Bioverfügbarkeit auf.

2.6.3 Einflussfaktor Plasmalipidstatus

Aufgrund der engen metabolischen Verknüpfung von Vitamin E mit dem Lipoprotein-stoffwechsel (vgl. Kapitel 2.3.2), ist zu vermuten, dass Fettstoffwechselstörungen (Dyslipoproteinämien) die Absorption von Vitamin E und damit die Plasmaspiegel beeinflussen. Zu den Dyslipoproteinämien zählen pathologisch erhöhte Cholesteroll- (Hypercholesterolämie) und Triacylglycerid-Plasmaspiegel (Hypertriacylglyceridämie) sowie erhöhte Plasmaspiegel beider Lipidfraktionen (kombinierte Lipidämie) [Hahn et al. 2006, S. 389].

Diese Annahme wurde in verschiedenen Biokinetikstudien bestätigt. Simon et al. [1997] haben die Vitamin-E-Plasmaspiegel von 57 männlichen Probanden mit diagnostizierter Hypercholesterolämie ($>6,2$ mmol/l bzw. 240 mg/l) mit denen von 56 gesunden männlichen Teilnehmern verglichen. Im Vergleich zu den gesunden Personen hatten die hypercholesterolämischen signifikant höhere Vitamin-E-Plasmaspiegel ($p=0,0001$). Diese lagen mit $42,5 \pm 10,02$ $\mu\text{mol/l}$ über dem Normbereich. Eine weitere Studie verglich die Vitamin-E-Konzentrationen in den LDL-Partikeln von 57 männlichen und weiblichen Probanden mit diagnostizierter Hypercholesterolämie ($>5,2$ mmol/l bzw. 201 mg/l) mit denen von 20 gesunden männlichen Teilnehmern. Die Vitamin-E-Spiegel in den LDL der Fälle waren signifikant erhöht ($p=0,003$) [Leonhardt et al. 1999]. Dementsprechende Vitamin-E-Plasmaspiegel fanden sich auch bei Patienten ($n=24$) mit einer Hypocholesterolämie (4,3 mmol/l bzw. 166 mg/l). Die niedrigen Cholesterol-Spiegel waren mit absolut geringeren Vitamin-E-Plasmaspiegeln korreliert [Muldoon et al. 1996]. Des Weiteren konnte in Interventionsstudien gezeigt werden, dass der Lipid-Status einen Einfluss auf den langfristigen Vitamin-E-Metabolismus hat. In diesen Untersuchungen verzehrten Patienten mit einer Hypertriacylglyceridämie ($5,81 \pm 2,55$ mmol/l) bzw. mit einer kombinierten Lipidämie (Triacylglyceride $2,3 \pm 0,4$ mmol/l; Cholesterol $7,0 \pm 0,3$ mmol/l) für sechs Wochen bzw. 24 Stunden α -Tocopherol in verkapselter Form. In der ersten Studie waren die α -Tocopherol-Plasmakonzentrationen nach der Intervention signifikant ($p<0,001$) erhöht im Vergleich zur Kontrollgruppe [van Tits et al. 2000]. Auch in der zweiten Studie waren die Plasmaspiegel signifikant erhöht ($p<0,0001$) [Hall et al. 2005].

2.6.4 Einflussfaktor Genetik

Grundsätzlich bestehen zwischen einzelnen Personen interindividuelle Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von Vitamin E [Dimitrov et al. 1991; Döring et al. 2004]. Jedoch konnten Jeanes und Kollegen [2005] an gesunden Männern zeigen, dass trotz der interindividuellen Schwankungen die Bioverfügbarkeitsraten intraindividuell konstant sind.

Die oben erwähnten Störungen des Lipoproteinmetabolismus können sowohl aufgrund genetisch vererbter Enzymdefekte (primäre Hyperlipidämie) als auch durch andere Erkrankungen (u.a. Diabetes Mellitus, Leber- und Nierenerkrankungen, Pankreatitis) oder einer Arzneimitteltherapie (sekundäre Hyperlipidämie) entstehen. Hier stellt sich somit ein Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E über die genetische Komponente dar. Häufig liegt bei den primären Hyperlipidämien ein Apolipoprotein-Polymorphismus vor, in erster Linie des Apolipoprotein E (Apo E) [Luley und Wieland 2001, S. 61ff]. Bei einem vorliegenden Polymorphismus des Apo E sind nachweislich die Gesamtcholesterol- sowie die Triacylglycerid-Plasmaspiegel erhöht [Minihane et al. 2000]. Vor diesem Hintergrund

kann ein Zusammenhang zwischen dem Apo-E-Polymorphismus und erhöhten Vitamin-E-Konzentrationen im Plasma vermutet werden. Dieser bestätigte sich bisher nicht. Eine Untersuchung an 244 Personen zeigte weder zwischen dem Apo-E-Genotyp und den Vitamin-E-Konzentrationen noch zu den lipidadjustierten Vitamin-E-Spiegeln eine signifikante Beziehung [Gómez-Coronado et al. 2002].

2.6.5 Einflussfaktor Rauchen

Raucher sind einem verstärktem oxidativen Stress ausgesetzt und weisen erhöhte Konzentrationen an Produkten der Lipidperoxidation auf [Morrow et al. 1995]. Aufgrund seiner Funktion als Antioxidans sind bei Rauchern daher niedrigere Plasmaspiegel an Vitamin E als bei Nichtrauchern feststellbar [van den Berg et al. 2002]. Humanuntersuchungen bestätigen das, indem nicht nur niedrigere Plasmakonzentrationen an α -Tocopherol bei Rauchern als bei Nichtrauchern bestimmt wurden [Bruno et al. 2005] sondern auch niedrigere Gehalte in den Lymphozyten und Thrombozyten [Jeanes et al. 2004a]. Dies scheint durch eine höhere Metabolisierungs- und Ausscheidungsrate bei Rauchern bedingt zu sein, was auf die verstärkte Umsetzung des Moleküls zurückzuführen ist [Bruno et al. 2005; Traber et al. 2001]. In seiner Funktion als Antioxidans kommt vermutlich vermehrt α -Tocopherol zum Einsatz, da Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern erhöhte γ -Tocopherol-Konzentrationen im Plasma aufweisen [Dietrich et al. 2003].

2.6.6 Einflussfaktor Ernährung

Zu dem Einfluss der Ernährung bzw. von Ernährungsfaktoren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E sind eine Reihe von Studien durchgeführt worden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 6 (Seiten 31ff) ausführlich beschrieben und nachfolgend kurz zusammengefasst.

Ein Haupteinflussfaktor auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E ist die Ernährung. So steht die Absorption in enger Verbindung mit den Nahrungslipiden und weiteren Bestandteilen der Kost sowie der Art der Verabreichung (Kapsel oder Lebensmittelmatrix). Die Absorption von Vitamin E findet im Rahmen der Lipidabsorption statt. Somit müssen für eine optimale Absorption von Vitamin E gleichzeitig Lipide im Gastrointestinaltrakt anwesend sein (vgl. Kapitel 2.3.1). Wird das Vitamin E auf nüchternen Magen eingenommen, wird nur ein geringer Anteil absorbiert, was sich in folgender Untersuchung bestätigt. Im Rahmen einer Langzeitkinetik-Studie bekamen 20 gesunde Probanden jeweils über 15 Tage 300 mg all-rac- α -Tocopheryl-Acetat. In der ersten Interventionsphase nahmen die Teilnehmer das Prüfprodukt auf nüchternen Magen und in der zweiten

Studienphase im Rahmen einer Abendmahlzeit (mediterrane Kost). Die Plasmaspiegel an α -Tocopherol waren in der zweiten Gruppe um 31,2% signifikant höher ($p=0,0015$) als in der ersten Gruppe [Iuliano et al. 2001].

Nach der aktuellen Datenlage hat die Menge und Art der **Nahrungslipide** einen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E. Generell besteht ein positiver Zusammenhang zwischen der in der Kost enthaltenen Fettmenge und der Absorptionsrate von Vitamin E [Dimitrov et al. 1991; Herrero-Barbudo et al. 2006; Jeanes et al. 2004b; Roodenburg et al. 2000]. Dabei erhöht sich die Absorptionsrate mit jedem Gramm gleichzeitig aufgenommenen Fett um 0,43 mg [Bruno et al. 2006]. Dieser Prozess scheint jedoch saturabel zu sein. Das bedeutet bei hohen Dosen und bei chronischer Aufnahme sinkt die Absorptionsrate wieder auf ein durchschnittliches Niveau [Dimitrov et al. 1991]. Eine geringfügige Menge an Vitamin E kann auch ohne gleichzeitige Aufnahme von Nahrungsfett absorbiert werden. So wurde in einer Langzeitkinetik-Untersuchung eine Erhöhung des α -Tocopherol-Serumspiegels nachgewiesen, wenn es gleichzeitig mit einer fettfreien Mahlzeit verzehrt wurde. Dies führen die Autoren auf einen zusätzlich zu dem Transport in den Chylomikronen bestehenden Verteilungsweg zurück (vgl. Kapitel 2.3). Dieser ist quantitativ jedoch nicht von Bedeutung, da der Anstieg der Serumkonzentrationen an α -Tocopherol sehr gering war [Dimitrov et al. 1991]. Des Weiteren zeigte eine Langzeitkinetik-Studie über 7 Tage von Roodenburg et al. [2000], dass eine Menge von ca. 3 g Fett ausreicht, um die Aufnahme von 50 mg α -Tocopherol zu gewährleisten. Entgegen dem beschriebenen Zusammenhang zwischen der gleichzeitig mit dem Vitamin E aufgenommenen Fettmenge und dessen Bioverfügbarkeit, hat die Fettmenge keinen Einfluss auf die Ausscheidungsrate, wie eine Kurzzeitkinetik-Studie über 72 h mit fortifizierten Äpfeln ergab [Bruno et al. 2006].

Die Absorptionsrate hängt neben der Menge des aufgenommenen Fettes auch von der Zusammensetzung des Fettes d.h. dem Fettsäuremuster ab. Während eine Kost mit einem hohen Anteil an gesättigten Fettsäuren (saturated fatty acids, SFA) die Bioverfügbarkeit von Vitamin E senkt, ist sie bei einer Kost mit einem ausgeglichenen Fettsäuremuster, sprich einem hohen Anteil an einfach (mono unsaturated fatty acids, MUFA) und PUFA erhöht [Öhrvall et al. 2001]. In der Kost mit dem hohen Anteil an SFA wurde Butter als Fettquelle genutzt, während das ausgeglichene Fettsäuremuster durch den überwiegenden Verzehr von Rapsöl erreicht wurde. Der Unterschied in der Bioverfügbarkeit ist zum einen in dem Fettsäuremuster und zum anderen in dem natürlichen Gehalt von Vitamin E im verwendeten Fett bedingt. Ein pflanzliches Fett wie Rapsöl weist natürlicherweise einen höheren Gehalt an Vitamin E auf als ein tierisches Fett wie Butter.

Zur Absorption von Vitamin E im Rahmen der Lipidverdauung muss es zunächst aus der Lebensmittelmatrix gelöst werden (vgl. Kapitel 2.3.1). Dies legt den Schluss nahe, dass

die Bioverfügbarkeit erhöht werden kann, wenn das Vitamin E in feinen Fetttröpfchen verteilt ist. Damit wird eine größere Oberfläche und bessere Angriffsfläche für die Verdauungsenzyme geschaffen. Dies wird von zwei Kinetikstudien bestätigt. In einer Untersuchung von Hayes et al. [2001] wies das in einer Mikrodispersion vorliegende all-rac- α -Tocopheryl-Acetat in Milch eine zweifach bessere Bioverfügbarkeit auf als das aus Kapseln. In einer Kinetikstudie von Wajda et al. [2007] konnte sogar eine zehnfach höhere Bioverfügbarkeit von Vitamin E aus einer Nanoemulsion im Vergleich zu Vitamin E in einer Standardformulierung nachgewiesen werden. Dagegen bestand in einer Untersuchung von Borel et al. [2001] zwischen einer groben ($10,1 \pm 0,9 \mu\text{m}$) und einer feinen Dispersion ($0,7 \pm 0,2 \mu\text{m}$) kein Unterschied in der Bioverfügbarkeit von Vitamin E. Die Autoren haben die folgenden Erklärungen für diesen nicht nachgewiesenen Effekt der Partikelgröße. Einerseits könnten die Emulsionspartikel bereits im Magen soweit mechanisch zerkleinert worden sein, dass die Partikelgröße im Duodenum nicht mehr signifikant unterschiedlich war. Andererseits ist die Lipidabsorptionsrate mit >95% so effektiv, dass ein möglicher Effekt auf die Absorption von Vitamin E durch die Partikelgröße nicht mehr ins Gewicht fallen könnte.

Auch die **Verabreichungsform** übt einen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E aus. Generell wird mehr Vitamin E aus einer Lebensmittelmatrix absorbiert als bei einer entsprechenden Menge in verkapselter Form [Hayes et al. 2001; Leonard et al. 2004]. Außerdem scheint über fortifizierte Lebensmittel generell eine bessere Aufnahme von Vitamin E gegeben zu sein als über nicht angereicherte Lebensmittel. So wurde eine Langzeitkinetik-Untersuchung über 4 Wochen durchgeführt, bei der die Studienteilnehmer täglich eine mit 31 mg Vitamin E pro Portion angereicherte Margarine oder eine Portion einer gebräuchlichen Margarine im Cross-over verzehrten. In der Gruppe mit der fortifizierten Margarine konnte über die Zeit ein signifikanter Anstieg der Serum-Vitamin-E-Spiegel verzeichnet werden [van het Hof et al. 1998]. Des Weiteren beeinflusst auch die Lebensmittelmatrix an sich die Höhe der Absorption von Vitamin E. So wurde gezeigt, dass Vitamin E aus einer Mahlzeit mit Toast und Butter besser absorbiert wird als aus Cornflakes mit Milch [Jeanes et al. 2004] sowie aus Milch eine höhere Bioverfügbarkeit aufweist als aus Orangensaft [Hayes et al. 2001]. Jeanes et al. [2004] begründen diesen Zusammenhang damit, dass die physikalischen Eigenschaften der Mahlzeit die Magenentleerung beeinflussen. So verlangsamen Nahrungsmittel mit einem hohen Gehalt an Ballaststoffen sowie Protein und einer hohen Viskosität die Magenentleerung, was zu einer effektiveren Absorption der Nährstoffe führt. Die Abhängigkeit der Absorptionsrate von der Lebensmittelmatrix konnte in einer experimentellen Untersuchung mit einem Modellmagen bestätigt werden. In einer Versuchreihe wurden neun unterschiedliche Lebensmittel einem *in-vitro*-Verdau unterzogen und die prozentuale Absorptionsrate

bestimmt. Die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol variierte von 0,47% (Apfel) bis nahezu 100% (Banane, Weißbrot und Salat). Mit der Ausnahme von Äpfeln wies α -Tocopherol dabei die gleiche (Mandeln, Weizenkeime, Käse (Camembert, 45% Fett) und Haselnüsse) oder höhere (Banane, Weißbrot, Salat und Milch) Bioverfügbarkeit wie γ -Tocopherol auf [Reboul et al. 2006].

Nicht nur die Lebensmittelmatrix allgemein wirkt auf die Höhe der Bioverfügbarkeit, sondern auch **Kostbestandteile**. Eine hohe Zufuhr von Vitamin A (57,3% der Kost; 4 mg/kg Körpergewicht; 360 μ g/kg Kost) senkte im Tierversuch die Aufnahme von Vitamin E [Bieri et al. 1984; Bieri und Tolliver 1982; Sklan und Donoghue 1982], was durch eine Metaanalyse von Schelling et al. [1995] bestätigt wurde. In einer Humanstudie konnte dagegen weder durch eine Zugabe von Retinol (600 μ g/d) noch von Calciferol (10 μ g/d) ein Effekt auf die Absorptionsrate von Vitamin E gezeigt werden [Hayes et al. 2001]. Auch in einer Tierstudie mit Schafen wurde kein Einfluss einer Gabe von 250 mg Retinol-Palmitat auf die Höhe der Absorption von Vitamin E nachgewiesen [Hidioglou 1993]. Neben Vitamin A scheinen auch weitere Kostbestandteile die Bioverfügbarkeit von Vitamin E beeinflussen zu können. In einer Zellstudie mit intestinalen Caco-2-Zellen wurde eine signifikante Minderung der Absorption von α -Tocopherol durch die Zugabe von Carotinoiden und Lutein aufgezeigt [Reboul et al. 2007]. Weiterhin haben tierexperimentelle Untersuchungen an Ratten nachgewiesen, dass Pektin [Schaus et al. 1985] und Weizenkleie [Omaye und Chow 1984] die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol senken. Eine Bioverfügbarkeits-Untersuchung von Granado-Lorencio et al. [2009] hat im Humanversuch weitere mögliche Absorptionseffektoren untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass die gleichzeitige Gabe von Milch oder Eisen die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus Saft nicht erhöhen konnte. Inwieweit diese Daten auf den Menschen übertragbar sind, muss in weiteren Ernährungsinterventionsstudien geklärt werden.

Tabelle 6: Studien zum Einfluss von verschiedenen Ernährungsfaktoren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E

Publikation	Studiendesign	n	Intervention	Ergebnisse
Nahrungslipide				
Wajda et al. 2007	Kurzzeitkinetik 14 h	12 ♂ 12 ♀	120 mg TÄ Vitamin E als normales Produkt oder als Nanoemulsion	signifikant zehnfach höhere Absorption von Vitamin E aus der Nanoemulsion (p<0,001)
Bruno et al. 2006	Kurzzeitkinetik 72 h	3 ♂ 2 ♀	22 mg α -Tocopherol in Äpfeln + 0,0 g Fett in der Kost oder + 2,4 g Fett in der Kost oder + 11,0 g Fett in der Kost	positive Korrelation zw. Fettmenge und α -Tocopherol-Spiegel im Plasma
Herrero-Barbudi et al. 2006	Kurzzeitkinetik 7 h	9 ♂ 10 ♀	6,45 mg α -Tocopherol + 430 ml Milch (3,5% Fett) oder + 430 ml Milch (0,3% Fett)	keine Korrelation zw. Fettmenge und α -Tocopherol-Spiegel in den Triacylglycerid- reichen Lipoproteinfraktionen
Jeanes et al. 2004b	Kurzzeitkinetik 14 h	3 ♂ 5 ♀	150 mg α -Tocopherol + Butter u. Toast (17,5 g Fett) oder + Cornflakes u. Milch (17,5 g Fett) oder + Cornflakes u. Milch (2,7 g Fett) oder + Wasser (0 g Fett)	Absorption mit Butter und Toast höher als mit Cornflakes
Borel et al. 2001	Kurzzeitkinetik 4 h	8 ♂	440 mg α -Tocopherol als Feinemulsion ($0,7\pm 0,2 \mu\text{m}$) oder als Grobemulsion ($10,1\pm 0,9 \mu\text{m}$)	kein signifikanter Effekt der Emulsionsgröße auf die α -Tocopherol-Spiegel ($p=0,704$)
Öhrvall et al. 2001	Langzeitkinetik 21 d	14 ♂ 6 ♀	2 identische Kostformen: (1) Kost reich an SFA; 7,2 mg α -Tocopherol (2) reich an PUFA; 24,7 mg α -Tocopherol	(1) signifikant niedrigere α -Tocopherol- (-5%) und γ -Tocopherol-Spiegel (-37%) (p<0,010) (2) signifikant erhöhte α -Tocopherol- (+7%) und γ -Tocopherol-Spiegel (+23%) (p<0,001)

Fortsetzung Tabelle 6: Studien zum Einfluss von verschiedenen Ernährungsfaktoren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E

Publikation	Studiendesign	n	Intervention	Ergebnisse
Nahrungslipide				
Roodenburg et al. 2000	Langzeitkinetik 7 d	6 ♂ 8 ♀	50 mg α -Tocopherol/d + 3,1 g Fett in der Kost oder + 34,1 g Fett in der Kost	kein signifikanter Unterschied in der Höhe der Absorption 3,1 g Fett, 20%; 34,1 g Fett, 23%
Dimitrov et al. 1991	Kurzzeitkinetik 24 h	3 ♂/♀	440 mg α -Tocopherol + 150 ml Milch (6 g Fett) oder + 150 ml Milch (0,45 g Fett) 880 mg α -Tocopherol + 150 ml Milch (6 g Fett) oder + 150 ml Milch (0,45 g Fett) 1320 mg α -Tocopherol + 150 ml Milch (6 g Fett) oder + 150 ml Milch (0,45 g Fett)	positive Korrelation zw. Fettmenge und α -Tocopherol-Spiegel im Plasma (p=0,050)
	Langzeitkinetik 28 d	8 ♂/♀ 23 ♂/♀ 18 ♂/♀	440 mg α -Tocopherol/d 880 mg α -Tocopherol/d 1320 mg α -Tocopherol/d	positive Korrelation zw. Fettmenge und α -Tocopherol-Spiegel im Plasma (p=0,070)

Fortsetzung Tabelle 6: Studien zum Einfluss von verschiedenen Ernährungsfaktoren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E

Publikation	Studiendesign	n	Intervention	Ergebnisse
Verabreichungsform				
Jeanes et al. 2004b	Kurzzeitkinetik 14 h	3 ♂ 5 ♀	150 mg α -Tocopherol + Butter u. Toast (17,5 g Fett) oder + Cornflakes u. Milch (17,5 g Fett) oder + Cornflakes u. Milch (2,7 g Fett) oder + Wasser (0 g Fett)	Absorption höher bei Toast und Butter als bei Cornflakes und Milch
Hayes et al. 2001	Langzeitkinetik 28 d	3 ♂ 5 ♀	(1) 200 mg α -Tocopherol/d + 480 ml Milch (1% Fett) oder + 480 ml Orangensaft (2) 100 mg α -Tocopherol/d + 480 ml Milch (1% Fett) oder + 480 ml Milch (0,3% Fett), (3) 100 mg α -Tocopherol/d (Kapsel)	kein signifikanter Unterschied in der Höhe der Absorption Milch, 110%; Orangensaft, 67% nach Milchverzehr 2x höhere Plasmaspiegel als nach Kapseleinnahme
van het Hof et al. 1998	Langzeitkinetik 28 d	15 ♂ 16 ♀	15 g Margarine/d oder 15 g Margarine (31 mg α -Tocopherol)/d	signifikant höhere α -Tocopherol-Spiegel in der Verumgruppe (p<0,050)
Dimitrov et al. 1991	Kurzzeitkinetik 72 h	2 ♂ 3 ♀	400 mg α -Tocopherol (Kapsel) oder 41 g Cerealien + 30 mg α -Tocopherol o. 45 g Cerealien + 400 mg α -Tocopherol	6 \pm 2x (30 mg α -Tocopherol) bzw. 26 \pm 8x (400 mg α -Tocopherol) höhere Bioverfügbarkeit zusammen mit Cerealien als aus Kapseln

Fortsetzung Tabelle 6: Studien zum Einfluss von verschiedenen Ernährungsfaktoren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E

Publikation	Studiendesign	n	Intervention	Ergebnisse
Kostbestandteile				
Reboul et al. 2007	Zellstudie 8 h	8 ♂	24 mg α -Tocopherol + 18 mg Lutein in der Kost oder + 36 mg Lutein in der Kost	dosisabhängig, erniedrigte α -Tocopherol-Spiegel ($p=0,069$)
Hayes et al. 2001	Langzeitkinetik 14 d	3 ♂ 5 ♀	30 mg α -Tocopherol in 480 ml Milch/d + 600 μ g Retinol oder + 10 μ g Calciferol	kein signifikanter Effekt der Vitamin-Zugabe auf die α -Tocopherol-Spiegel
Schaus et al. 1985	Langzeitkinetik Tierstudie (Ratten) 8 Wochen	8	250 mg α -Tocopherol/g Kost + 0% Pektin in der Kost oder + 3% Pektin in der Kost oder + 6% Pektin in der Kost oder + 8% Pektin in der Kost	reduzierte α -Tocopherol-Leber-Konzentrationen bei 6% und 8% Pektin in der Kost
Omaye und Chow 1984	Langzeitkinetik Tierstudie (Ratten) 56 d	27 ♂	176 mg α -Tocopherol/kg Kost + 5% Weizenkleie in der Kost oder + 20% Weizenkleie in der Kost	kein signifikanter Effekt der Weizenkleie auf die α -Tocopherol-Spiegel
Sklan und Donoghue 1982	Langzeitkinetik Tierstudie (Hühner) 21 d	5 ♂	100 mg α -Tocopherol/kg d + 360 μ g Retinol/kg d	niedrigere α -Tocopherol-Plasmaspiegel durch die Zugabe von Retinol
Bieri et al. 1981	Langzeitkinetik Tierstudie (Ratten) 7 d	6 ♂	(1) 30 mg α -Tocopherol /kg Kost + 57,3% der Kost (2) 100 mg α -Tocopherol /kg Kost + 57,3% der Kost	niedrigere α -Tocopherol-Plasmaspiegel durch die Zugabe von Retinol niedrigere α -Tocopherol-Plasmaspiegel durch die Zugabe von Retinol

3 Anreicherung von Lebensmitteln

3.1 Begriffsbestimmung und rechtliche Grundlagen

Nach der allgemeinen Auffassung zählt ein Lebensmittel, das mit bestimmten Stoffen angereichert ist, zu den so genannten funktionellen Lebensmitteln. Für diese Produktkategorie bestehen derzeit keine spezifischen gesetzlichen Regelungen. Als funktionelle Lebensmittel gelten herkömmliche Lebensmittel, die neben ihrer ernährungsphysiologischen Bedeutung einen zusätzlichen Gesundheitsnutzen aufweisen, über den der individuelle Gesundheitszustand verbessert oder der Entstehung bestimmter Erkrankungen gezielt vorgebeugt werden kann [Roberfroid 2000]. Dieser zusätzliche Nutzen wird üblicherweise über einen Zusatz funktioneller Bestandteile zu einem Lebensmittel des allgemeinen Verzehrs oder ein besonderes Herstellungsverfahren, das zur Anreicherung funktionell wirksamer Substanzen führt, erreicht. Funktionelle Lebensmittel haben eine lebensmitteltypische Erscheinungsform, d.h. sie werden nicht als Kapsel, Tablette oder in Pulverform angeboten. Darüber hinaus werden sie als Teil der täglichen Ernährung verzehrt [Hagenmeyer und Hahn 2007].

Sollen Lebensmittel mit bestimmten Substanzen angereichert werden, so gilt die Verordnung (EG) Nr. 1925/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 20. Dezember 2006 über den Zusatz von Vitaminen und Mineralstoffen sowie bestimmten anderen Stoffen zu Lebensmitteln. Die Verordnung sieht die Erstellung einer im europäischen Rechtsraum harmonisierten Liste von Vitaminen, Mineralstoffen sowie weiteren definierten Stoffen (z.B. Ballaststoffe, essentielle Fettsäuren) mit ihren Quellen vor, die von den Herstellern den Lebensmitteln zugesetzt werden dürfen. Das Zusetzen von Vitaminen und Mineralstoffen zu einem Lebensmittel ist nur in einer für den menschlichen Körper bioverfügbaren Form erlaubt. Mittels dieser Verordnung soll zum einen der Ernährungszustand oder ein bestehender Mangel in der Bevölkerung oder in bestimmten Bevölkerungsgruppen verbessert werden und zum anderen die allgemein anerkannten wissenschaftlichen Erkenntnisse hinsichtlich der Bedeutung von Vitaminen und Mineralstoffen in der Ernährung und deren gesundheitlichen Auswirkungen weiterentwickelt werden. Vitamine und Mineralstoffe dürfen nicht verarbeiteten Lebensmitteln und Getränken mit einem Alkoholgehalt von mehr als 1,2% Vol. nicht zugesetzt werden. Die Verordnung sieht die Festlegung von Höchstgehalten für Vitamine und Mineralstoffe vor, die den Lebensmitteln zugesetzt werden dürfen. Diese richten sich nach den von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit als sicher erachteten Höchstmengen, den Aufnahmemengen aus anderen Ernährungsquellen sowie der für die

Bevölkerung empfohlenen Referenzzufuhr. Die Mindestgehalte richten sich nach der empfohlenen Tagesdosis (Recommended Daily Allowance, RDA), die im Anhang der Richtlinie 90/496/EWG des Rates vom 24. September 1990 über die Nährwertkennzeichnung von Lebensmitteln angegeben ist. Die zugesetzten Stoffe müssen im Rahmen der Nährwertkennzeichnung mit ihrem Gesamtgehalt kenntlich gemacht werden [Verordnung (EG) Nr. 1925/2006; Richtlinie 90/496/EWG].

Im Speziellen darf Vitamin E in Form der folgenden Verbindungen Lebensmitteln zugesetzt werden: RRR- α -Tocopherol, all-rac- α -Tocopherol, RRR- α -Tocopheryl-Acetat, all-rac- α -Tocopheryl-Acetat, RRR- α -Tocopheryl-Succinat. Die Mindestmenge beträgt dabei 10 mg/Tag. Die Höchstgehalte sind derzeit noch nicht festgelegt [Verordnung (EG) Nr. 1925/2006].

3.2 Emulsionen

3.2.1 Definition

Bei den in dieser Arbeit eingesetzten Prüfprodukten handelt es sich lebensmitteltechnologisch um disperse Systeme in Form von Emulsionen. Emulsionen zählen zu den **Dispersen Systemen**. Diese bestehen aus zwei oder mehr Phasen, von denen mindestens eine verteilt vorliegt (disperse Phase) und von einer kontinuierlichen Phase (Dispersionsmittel) umhüllt ist. Die Phasen unterscheiden sich im Aggregatzustand, im Energiezustand oder in der chemischen Zusammensetzung [Tscheuschner 2004, S. 73].

Bei den dispersen Systemen wird zwischen einfachen und komplexen dispersen Systemen unterschieden. Einfache disperse Systeme bestehen aus zwei Phasen, während komplexe disperse Systeme aus mehreren dispersen Phasen und mehreren kontinuierlichen Phasen bestehen. Grundsätzlich gibt es drei Arten von dispersen Systemen, die nach Art des Dispersionsmittel eingeteilt werden: Aerosole, Lyosole und Xerosole [Tscheuschner 2004, S. 74]. Tabelle 7 (vgl. nachfolgende Seite) gibt einen Überblick über die acht Typen einfacher disperser Systeme.

Tabelle 7: Typen einfacher disperser Systeme

Disperses System	Dispersionsmittel	Disperse Phase	Beispiel
Aerosole			
Flüssigkeitsaerosol	Gas	Flüssigkeit	Nebel
Feststoffaerosol	Gas	Feststoff	Staub
Lyosole			
Gasdispersion, Schaum	Flüssigkeit	Gas	Eiweißschaum
Emulsion	Flüssigkeit	Flüssigkeit	Milch
Sol, Suspension	Flüssigkeit	Feststoff	Fruchtnektar
Xerosole			
fester Schaum, poröser Festkörper	Feststoff	Gas	Baiser
feste Emulsion, poröser flüssigkeitsgefüllter Festkörper	Feststoff	Flüssigkeit	Margarine
feste Suspension	Feststoff	Feststoff	Teigwaren

Quelle: Tscheuschner 2004, S. 74

Neben der oben beschriebenen Einteilung können disperse Systeme auch anhand der Teilchengröße unterschieden werden, womit sie als molekulardisperse Lösungen (<1 nm), kolloiddisperse Lösungen (1 nm bis 1 µm) und grobdisperse Lösungen (>1 µm) eingeordnet werden. Diese können als Reinform (monodispers) oder Mischform (polydispers) auftreten [Tscheuschner 2004, S. 74].

Emulsionen im Speziellen sind Dispersionen von Flüssigkeitströpfchen (disperse Phase) in einem flüssigen Dispersionsmedium, in dem die disperse Phase nicht oder nur begrenzt löslich ist. Die disperse Phase findet sich in isolierten Bereichen in der kontinuierlichen Phase. Dabei ist die disperse Phase bestrebt sich durch Koaleszenz (Zusammenfließen, vgl. Kapitel 3.2.2) zu größeren Bereichen zu vereinigen, was bedeutet, dass die Emulsion thermodynamisch instabil ist. Abbildung 4 verdeutlicht schematisch den Aufbau einer Emulsion. Einfache Emulsionen setzen sich aus einer hydrophilen und einer lipophilen Flüssigkeit zusammen, die im einfachsten Fall Wasser und Öl sind. Eine dieser Phasen liegt in Form von isolierten Tropfen in der kontinuierlichen Phase vor. Die Grundtypen von Emulsionen sind somit die Öl-in-Wasser-Emulsion (O/W-Emulsion) und die Wasser-in-Öl-Emulsion (W/O-Emulsion). [Schubert 2005, S. 1f]. Überdies können Emulsionen auch anhand der Teilchengröße eingeteilt werden. Danach werden grobe Emulsionen (1-5 µm) und Ultraemulsionen (10-50 nm) unterschieden [Tscheuschner 2004, S. 100]. Dabei sind die Tropfen in der kontinuierlichen Phase nicht gleich groß, sondern weisen ein Spektrum an verschiedenen

Partikelgrößen auf. Hierbei ist die durchschnittliche Partikelgröße für die Stabilität sowie die technologischen Eigenschaften einer Emulsion entscheidend und sollte zur Charakterisierung der Emulsion immer herangezogen werden [Colafemmina et al. 2002].

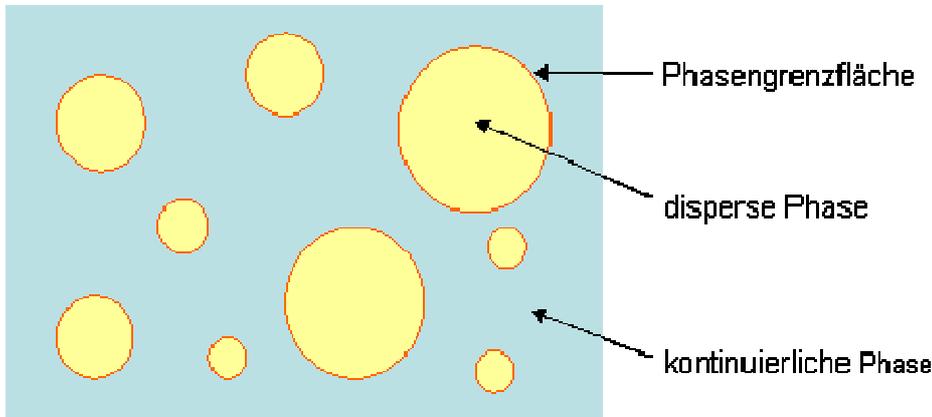


Abbildung 4: Schematische Darstellung einer Emulsion

3.2.2 Eigenschaften

Die Eigenschaften **disperser Systeme** werden durch die Anzahl und Art der Phasen sowie deren Wechselwirkungen und Proportionen zueinander bestimmt. Des Weiteren haben die Teilchengröße, Teilchenform, Teilchenflexibilität, Oberflächeneigenschaften sowie Teilchen-Teilchen- und Teilchen-Lösungsmittel-Wechselwirkungen Einfluss auf die Eigenschaften der Systeme [Tscheuschner 2004, S. 73].

Grundsätzlich bestehen in einem dispersen System zwischenmolekulare und zwischenpartikuläre Wechselwirkungen. Die zwischenmolekularen Wechselwirkungen beeinflussen wesentlich die Eigenschaften der Dispersion. Sie resultiert aus der Grenzflächenenergie, die aus der großen spezifischen Grenzfläche (zwischen den Phasen) entsteht. Die spezifische Grenzfläche wiederum ergibt aus dem Verhältnis der Gesamtoberfläche zum Gesamtvolumen der Teilchen. In kolloiddispersen Systemen herrschen zwischen den Molekülen, Atomen und Ionen immer Abstoßungs- und Anziehungskräfte, welche eine relativ kurze Reichweite besitzen. Dagegen haben die zwischenmolekularen Abstoßungs- und Anziehungskräfte in grobdispersen Systemen eine größere Reichweite. Diese ergeben sich aus der Summe der molekularen Kräfte der Atome und Moleküle. Die auftretenden Kräfte beruhen auf elektrischen Ladungen, die sich abstoßen (Ionenwechselwirkung, atomare Abstoßungskräfte) oder anziehen (Wechselwirkungen zwischen permanenten Dipolen, induzierten Dipolen oder Neutralmolekülen). Wesentlich für die Eigenschaften disperser Systeme ist die freie Grenzflächenenergie, welche die unkompensierten Kräfte der Moleküle oder Teilchen an der Phasengrenzfläche umfasst.

Sie entspricht bei Flüssigkeiten der Arbeit, die beim Transport eines Moleküls aus dem Phaseninneren an die Oberfläche, geleistet werden muss, wobei ein Teil der zwischenmolekularen Anziehungskräfte überwunden werden muss. Die Art und Größe der zwischenmolekularen Wechselwirkungen bestimmen den Zahlenwert der spezifischen freien Grenzflächenenergie [Tscheuschner 2004, S. 75ff].

Die zwischenpartikulären Wechselwirkungen (Abstoßungs- und Anziehungskräfte) entstehen zwischen den dispersen Teilchen oder ausgedehnten Phasengrenzen. Sie beruhen zum Teil auf den gleichen Kräften wie die zwischenmolekularen Wechselwirkungen, die sich hier jedoch überlagern, wodurch neuartige Effekte auftreten. Die hier wirkenden Kräfte sind für die Entstehung, Stabilität und Zersetzung disperser Systeme und deren rheologischen Eigenschaften entscheidend. Dazu zählen unter anderem elektrostatische sowie Van-der-Waals-Wechselwirkungen, Aggregation (Traubenbildung) und Koaleszenz (Zusammenfließen) der Tropfen. Die Koaleszenz ist eine typische Erscheinung speziell in Emulsionen. Bei geringen Teilchenabständen können Wechselwirkungen dazu führen, dass die Energiebarriere zwischen den Molekülen erniedrigt ist, wodurch die Zwischenschichten zwischen den Teilchen verschwinden können. Dies führt zum Zusammenfließen von Flüssigkeitstropfen (Koaleszenz) in einer Emulsion unter Verringerung der volumenspezifischen Oberfläche. Koaleszenz tritt ein, wenn die Dispersionskräfte nicht ausreichend kompensiert werden können. Die Koaleszenzstabilität ist ein wesentlicher Faktor für die Herstellung stabiler Schäume und Emulsionen. [Tscheuschner 2004, S. 87ff].

Im speziellen Fall der **Emulsionen** unterscheiden sich die beiden Grundtypen in einigen Eigenschaften. Die Konsistenz von Emulsionen richtet sich nach der Viskosität des Dispersionsmittels. Bei einem hohen Anteil an disperser Phase wird die Konsistenz auch durch die mittlere Tröpfchengröße und die Tröpfchengrößeverteilung bestimmt [Schubert 2005, S. 3]. Weitere Eigenschaften und Erkennungsmerkmale von Emulsionen sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Eigenschaften bzw. Erkennungsmerkmale von O/W- und W/O-Emulsionen

Eigenschaft / Merkmal	O/W-Emulsion	W/O-Emulsion
Konsistenz (bei Volumenanteil der inneren Phase <30%)	Viskosität der wässrigen Phase	salben- oder butterartig
Verdünnbarkeit	mit Wasser	mit Öl
Färbbarkeit	mit Methylenblau	mit Sudanrot
elektrische Leitfähigkeit	ja	nein
Tropfen auf Löschpapier	Wasserrand	Ölfleck

Quelle: Schubert 2005, S. 3

Zu den wichtigsten Eigenschaften von Emulsionen zählen die Stabilität, die Grenzflächenbildung und die Rheologie. Diese werden nachfolgend genauer beschrieben. Weitere Merkmale von Emulsionen sind optische Eigenschaften (Farbe, Glanz), Wirkstofffreisetzung und Geschmack sowie Verteilung der Inhaltsstoffe. Alle diese Eigenschaften lassen sich durch die Tropfengröße gezielt beeinflussen. Aus diesem Grund ist auch die Tropfengröße die wichtigste Stellgröße für die Eigenschaften von Emulsionen [Schubert 2005, S. 6ff].

3.2.2.1 Stabilität und Emulgierhilfsstoffe

Die Stabilität von Emulsionen wird unterteilt in die physikalische, die mikrobiologische und in die chemische Stabilität. Die physikalische Stabilität gibt an, inwieweit die Tröpfchengrößenverteilung unabhängig von Zeit und Ort ist und somit keine Sedimentation (Absetzen), Aggregation (Traubenbildung) oder Koaleszenz (Zusammenfließen) der Tropfen auftritt. Der physikalischen Instabilität kann beispielsweise durch eine Verkleinerung der Tropfen, abstoßende Kräfte zwischen den Tropfen der dispersen Phase oder durch den Einsatz von Emulgierhilfsstoffen entgegen gewirkt werden. Zu letzteren zählen Emulgatoren (grenzflächenaktive Stoffe) und Stabilisatoren [Schubert 2005, S. 3ff].

Die klassischen **Emulgatoren** (grenzflächenaktive Stoffe) sind amphiphile Moleküle, die aus einem hydrophilen Kopf und einem lipophilen Schwanz bestehen. Sie adsorbieren an der Grenzfläche zwischen der dispersen und der kontinuierlichen Phase, womit die Grenzflächenspannung herabgesetzt und eine sterische und/oder elektrostatische Barriere gebildet wird. So entsteht eine Schutzschicht um die innere Phase, die die Koaleszenz der gebildeten Tropfen verhindert [Flückiger 1966; Schubert 2005, S. 6ff]. Zu den Emulgatoren zählen außerdem hochmolekulare Stoffe wie Proteine, die entweder extra zugesetzt werden oder natürlicherweise in den verwendeten Inhaltsstoffen enthalten sind. Proteine sind keine grenzflächenaktiven Stoffe im klassischen Sinn, sind aber dennoch geeignet eine Emulsion zu stabilisieren. Sie müssen einerseits die Fähigkeit besitzen, an anderen Molekülen zu adsorbieren und andererseits sich schnell innerhalb der entstehenden Grenzfläche auszurichten [Euston und Hirst 2000]. Das Vermögen von Proteinen die Öltröpfchen in einer O/W-Emulsion zu stabilisieren, hängt somit direkt mit der Struktur und Konformation des Proteins zusammen [Das und Kinsella 1990]. In den in dieser Arbeit eingesetzten Prüfprodukten finden sich die Proteine der Milch und des Eigelbs. Sie fungieren in den Emulsionen als Emulgatoren. In Milch beispielsweise finden sich das Casein und das Molkenprotein. Das Casein liegt in der Milch in Form von Micellen vor, die aus vielen Molekülen bestehen, die über Calcium-Phosphatbrücken miteinander verbunden sind. Dagegen ist das Molkenprotein ein globuläres Protein,

welches sich durch die Ausbildung von Disulfidbrücken, Wasserstoffbrücken und hydrophoben Wechselwirkungen auszeichnet [Wong et al. 1996]. Im Eigelb finden sich Glycerophospholipide (v.a. Lecithin), Lipoproteine und Proteine, die als Emulgatoren wirken können.

Stabilisatoren sind hochmolekulare Stoffe, die die Viskosität der kontinuierlichen Phase erhöhen, damit die Beweglichkeit der Tropfen verringern und die Sedimentationsgeschwindigkeit senken. Stabilisatoren wie beispielsweise Polysaccharide und Hydrokolloide haben im Allgemeinen keine grenzflächenaktiven Eigenschaften. Eine Ausnahme davon bilden bestimmte Proteine, die aufgrund ihres Aufbaus aus polaren Gruppen und unpolaren Ketten zusätzlich grenzflächenaktiv sind [Schubert 2005, S. 6ff]. Hydrokolloide sind hochmolekulare hydrophile Polymere, die eine Gruppe von Proteinen und Polysacchariden wie Pektin, Gelatine oder Galactomannose umfassen. Sie sind ebenfalls grenzflächenaktiv und wirken als Verdickungsmittel. Sie beeinflussen damit die Eigenschaften von dispersen Systemen [Dickinson 2003]. In der vorliegenden Arbeit werden keine Stabilisatoren eingesetzt, daher wird an dieser Stelle auf dieses Thema nicht weiter eingegangen.

3.2.2.2 Grenzflächen

Als Grenzfläche wird der Bereich am Übergang zweier Phasen bezeichnet. Diese Schicht ist in der Regel nur wenige Molekülgrößen dick und wird daher meist als zweidimensional beschrieben. Die thermodynamischen Eigenschaften der Emulsion ändern sich an der Phasengrenze schlagartig [Pohl 2005, S. 45].

Zwischen den Molekülen, die sich innerhalb einer Phase oder zwischen zwei Phasen befinden, herrschen anisotrope Wechselwirkungen (Anziehungs- und Abstoßungskräfte). Aus diesen resultieren Kräfte, die jeweils senkrecht zur Phasengrenzfläche gerichtet sind. Im Normalfall wirken die Molekülkräfte in alle Richtungen des Raumes (Abbildung 5). Die Wechselwirkungen der Moleküle und Teilchen an der Phasengrenzfläche können sich von denen in der Phase wesentlich unterscheiden, da sie nur in der Oberflächenschicht und in der Volumenphase mit gleichartigen Molekülen in Wechselwirkung treten können. Das bedeutet die Moleküle an der Phasengrenze weisen einen energetisch ungünstigen Zustand auf. Das System ist daher bestrebt, die Grenzfläche zu minimieren. Die unkompensierten Kräfte der Moleküle oder Teilchen an der Phasengrenzfläche werden als freie Grenzflächenenergie bezeichnet. Sie entspricht bei Flüssigkeiten der Arbeit, die beim Transport eines Moleküls aus dem Phaseninneren an die Oberfläche zu leisten ist, wobei ein Teil der zwischenmolekularen Anziehungskräfte überwunden werden muss und sich die freie Energie in der Emulsion vergrößert. Die Art und Größe der zwischen-

molekularen Wechselwirkungen bestimmen den Zahlenwert der spezifischen freien Grenzflächenenergie (**Grenzflächenspannung**). Diese ist darüber hinaus abhängig von der Entropie, der Temperatur, dem Druck, dem Volumen sowie der Größe der Phasengrenzfläche [Pohl 2005, S. 45f; Tscheuschner 2004, S. 76f].

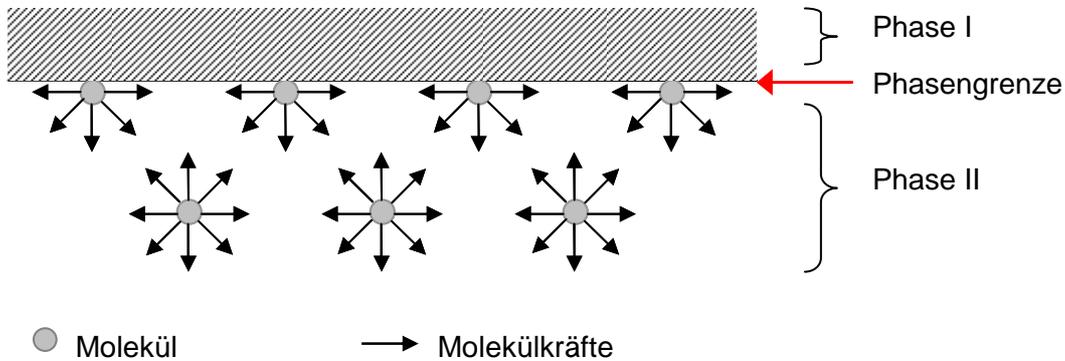


Abbildung 5: Intermolekulare Wechselwirkungen an einer Phasengrenze

In einer Emulsion, die grenzflächeaktive Stoffe enthält, reichern sich diese an der Grenzfläche an. Dabei stellt sich ein dynamisches Gleichgewicht zwischen gelösten und an der Grenzfläche adsorbierten Molekülen ein. Letztere bewirken eine Abnahme der Grenzflächenspannung. Somit setzen sich mit steigender Konzentration der grenzflächenaktiven Stoffe im System immer mehr Moleküle an die Grenzfläche und die Grenzflächenspannung nimmt ab. Dieser Prozess ist sättigbar, da ab einer bestimmten Konzentration die Grenzflächen vollständig belegt sind. Einige grenzflächeaktiven Stoffe aggregieren nach Überschreitung des Maximums der Grenzflächebelegung. Zur Erhöhung der Stabilität einer Emulsion werden daher Konzentrationen eingesetzt, die die maximale Grenzflächenbelegung überschreiten, um eine minimale Grenzflächenspannung zu erreichen. Damit wird die zum Tröpfchenaufbruch notwendige Energie auf ein Minimum reduziert, was den Emulgierprozess erleichtert [Pohl 2005, S. 48ff].

Die Grenzflächenbelegung mit grenzflächenaktiven Substanzen ist ein dynamischer Prozess, womit auch die Grenzflächenspannung einer zeitlichen Veränderung unterliegt. Beispielsweise wird im Emulgierprozess die Phasengrenzfläche vergrößert, wodurch sich das System nicht im Gleichgewicht befindet. Damit ist die Belegungsdichte geringer als sie der Konzentration der grenzflächeaktiven Stoffe entsprechend wäre, so dass mehr Moleküle an der Grenzfläche adsorbieren. Die Kinetik der Grenzflächenbelegung bestimmt die Geschwindigkeit der zeitlichen Abnahme der Grenzflächenspannung, was für den Tropfenbruch im Emulgierprozess bedeutend sein kann [Pohl 2005, S. 80].

Die Eigenschaften der Grenzflächen unterscheiden sich je nachdem, ob klassische grenzflächenaktive Stoffe oder Proteine eingesetzt werden. Proteine bilden eine viskoelastische Grenzschicht, an der die Proteine in erster Linie adsorbiert vorliegen. Dies

beeinflusst wiederum die mechanischen Funktionen der Grenzschicht [Izmailova et al. 1999]. Das Ausmaß der Adsorption der Proteine ist abhängig von den hydrophoben Eigenschaften der Grenzflächen [Corredig und Dalgleish 1996] sowie der Belegung der Grenzfläche mit den Proteinen [Kim und Kinsella 1985]. Nachdem die Proteine an der Grenzfläche adsorbieren wird ihre Sekundär- und Tertiärstruktur entfaltet und wieder neu gebildet, so dass sich die hydrophoben Reste zur hydrophoben Phase hin ausrichten [Smith und Clark 1992; Fang und Dalgleish 1997]. So hängen die mechanischen Eigenschaften einer Grenzschicht direkt mit der Struktur der Proteine und der Stärke der Interaktion zwischen den Proteinen zusammen [Wüstneck et al. 1996; Mackie et al. 1999; Bos und van Vliet 2001], was wiederum die Stabilität der Emulsion in Abhängigkeit der Sekundärstruktur der eingesetzten Proteine beeinflusst [Husband et al. 1997; Euston et al. 1999]. Klassische grenzflächenaktive Stoffe beeinflussen die Grenzflächeneigenschaften dahingehend, dass neben der Menge der eingesetzten Moleküle auch die Geschwindigkeit, mit der die Grenzflächen von den grenzflächenaktiven Stoffen gebildet werden, für die Stabilität von Emulsionen ausschlaggebend ist [Baret et al. 2009]. Im Gegensatz zu den Proteinen bilden klassische grenzflächenaktive Stoffe keine viskoelastischen Grenzflächen aus, sondern kompakte Grenzschichten. Die amphiphilen Moleküle unterliegen ständigen Abstoßungskräften, wodurch sich die Grenzfläche laufend modifiziert. Damit sind die Strukturen der eingesetzten Emulgatoren entscheidend für ihre grenzflächenaktiven und stabilisierenden Eigenschaften [Fruhner et al. 1999]. Befinden sich sowohl klassische grenzflächenaktive Substanzen als auch Proteine in einer Emulsion, so sind die Stabilisierungsmechanismen nicht miteinander vereinbar und es kommt zur einer kompetitiven Destabilisierung der Emulsion [Wilde et al. 2001].

3.2.2.3 Rheologie

Die Rheologie ist die Wissenschaft vom Deformations- und Fließverhalten fluider und fester Materialien unter der Einwirkung mechanischer Kräfte. Die rheologischen Eigenschaften eines Lebensmittels hängen dabei direkt mit den sensorischen Eigenschaften des Lebensmittels zusammen [Štern et al. 2001]. Die Rheologie umfasst die Teilgebiete Makro- und Mikrorheologie sowie die Texturanalyse [Gerhards 2005, S. 86]. Im Folgenden werden nach einer kurzen Einführung in die grundsätzlichen Begrifflichkeiten der Rheologie die drei Teilgebiete mit speziellem Bezug auf die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Lebensmittelsystemen (Frischkäse, Mayonnaise und Pudding) näher beschrieben.

Zu den rheologischen Grundbegriffen zählen die Schubspannung, die Scherung, die Schergeschwindigkeit, die Viskosität sowie die Fließ- und Viskositätskurven [Gerhards 2005, S. 86ff].

Schubspannung (τ):	auf die Fläche bezogene Kraft, deren Richtung parallel zur Angriffsfläche liegt; Einheit: Pascal (Pa) bzw. N/m ² ,
Scherung (γ):	durch eine angelegte Schubspannung wird das Volumenelement verformt,
Schergeschwindigkeit (G):	Maß für die Bewegung der Fluidschichten unter Einwirkung der Schubspannung; Einheit: 1/Sekunde (1/s),
Viskosität (η):	Schubspannung im Verhältnis zur Schergeschwindigkeit, in Abhängigkeit von Temperatur, Druck, Intensität der Beanspruchung, Zeit sowie Art und Zusammensetzung der Probe; Einheit: Pascal-Sekunden (Pa·s),
Fließkurve:	beschreibt die Schergeschwindigkeit in Abhängigkeit der Schubspannung und stellt damit das Fließverhalten dar
Viskositätskurve:	stellt die Schergeschwindigkeit in Abhängigkeit der Viskosität dar [Gerhards 2005, S. 86ff].

Die **Makrorheologie** betrachtet die Körper als kontinuierliches Medium ohne Berücksichtigung der Mikrostruktur und untersucht dabei die äußeren Erscheinungen der Körper bei der Deformation. Die Deformation ist definiert als die relative Verschiebung der Teilchen eines Körpers, bei der sich das Volumen und/oder die Gestalt ändern, wobei der Zusammenhang des Körpers nicht zerstört wird. Die in dieser Arbeit untersuchten Lebensmittel zählen zu den viskoelastischen Körpern, was bedeutet, dass sie sowohl elastische als auch viskose Eigenschaften aufweisen. Viskoelastische Körper besitzen keine Fließgrenze, sind nicht formstabil und die Deformation geht nach Aufhebung der äußeren Spannung teilweise sowie zeitlich verzögert zurück [Tscheuschner 2004, S. 151ff]. Besitzt ein Körper eine Fließgrenze, so ist eine bestimmte minimale Kraft notwendig, um eine Verformung in der Substanz zu erreichen [Flückiger 1966]. Genauer beginnt das Fließen erst bei Einwirkung einer Schubspannung oberhalb einer minimalen Schubspannung (τ_0), womit die Struktur bis zur Fließgrenze nicht zerstört wird [Gerhards 2005, S. 93]. In der Rheologie wird zwischen der äußeren (hervorgerufene Deformation) und der inneren Spannung (innere Reibung) unterschieden. Die äußere Spannung sind die Kräfte, die auf die Oberfläche eines Körpers einwirken und diesen deformieren; sie werden durch einen Vektor beschrieben. Die innere Spannung ist das Resultat von

Wechselwirkungskräften zwischen den Teilchen oder Molekülen, die als Reaktion auf die Deformation hervorgerufen werden; sie werden durch einen Tensor dargestellt [Tscheuschner 2004, S. 151].

Die **Mikrorheologie** betrachtet die Körper in ihrem molekularen bzw. dispersen Aufbau unter Berücksichtigung der Art, Form, Größe, Konzentration und Wechselwirkungen der Komponenten sowie der statischen bzw. dynamischen Mikrostruktur während der Deformation. Die hier untersuchten Lebensmittel können vorherrschend in die Gruppe der dispersen Systeme mit Koagulationsstruktur eingeordnet werden. Bei diesen liegen die dispersen Teilchen in hoher Konzentration vor, wobei starke Wechselwirkungen zwischen ihnen auftreten. Die Struktur selbst ist relativ stabiler [Tscheuschner 2004, S. 153ff].

In der **Texturanalyse** erfolgt die Charakterisierung der Körper mittels sensorischer, haptischer, messtechnischer, mikroskopischer, elektronenmikroskopischer und röntgen-diffraktometrischer Meßmethoden. Die in dieser Arbeit untersuchten Lebensmittelsysteme gehören zu den halbfesten bzw. pastösen Lebensmitteln. Diese zeichnen sich durch eine hohe Volumenkonzentration und einer relativ geringen Strukturfestigkeit aus [Tscheuschner 2004, S. 235ff].

3.2.3 Herstellung

Der Emulgierprozess besteht im Wesentlichen aus drei Phasen: Mischen, Zerkleinern und Stabilisieren. Zunächst werden die nichtmischbaren Flüssigkeiten zusammengebracht. Dabei werden die einzelnen Komponenten zu einer grob dispersen Voremulsion gemischt. Die benötigte mechanische Energie wird meist durch Rühren aufgebracht. Im zweiten Schritt wird die innere Phase der Voremulsion mittels Zufuhr von mechanischer Energie dispergiert [Schuchmann und Karbstein 2005, S. 173]. Dispergieren ist eine durch Turbulenz erzielte Umwandlung einer Schichtenstruktur in eine Tropfenstruktur von Flüssigkeiten oder Flüssigkeitsgemischen, die nicht oder nur in sehr geringem Maß ineinander löslich sind. Sie bleiben auch in dispergierter Form durch eine oder mehrere Phasengrenzflächen getrennt. Ziel ist die Realisierung einer stabilen annähernden Gleichverteilung der Tropfenstruktur im gesamten Prozessraum [Tscheuschner 2004, S. 235]. Im Einzelnen werden die großen Tropfen der Voremulsion beim Feinemulgieren durch äußere Kräfte verformt und zerkleinert. Zum Aufbruch der Tropfen müssen die an einem Tropfen angreifenden Spannungen ein kritisches Maß überschreiten und die Deformationszeit muss ausreichend groß sein. Im letzten Schritt werden die neu entstandenen Phasengrenzflächen stabilisiert. Dies geschieht durch die Adsorption von Emulgatormolekülen und durch hydrodynamische Effekte. Die Emulgatoren werden extra zugegeben oder sind bereits in den Grundzutaten vorhanden, beispielsweise Phospho-

lipide im Eigelb oder Caseine in der Milch. Nicht genügend stabilisierte Tropfen, solche die nicht ausreichend mit Emulgatormolekülen besetzt sind, koaleszieren bei einem Zusammenstoß und die Emulsion kann aufbrechen. Das Brechen der Emulsion bedeutet, dass sich die hydrophile und die lipophile Phase vollständig trennen [Schuchmann und Karbstein 2005, S. 173].

3.3 Technologische Aspekte der Modelllebensmittel

Die Herstellung der für diese Arbeit relevanten Lebensmittelsysteme wird nachfolgend anhand der Standardverfahren beschrieben, welche im Labormaßstab durchgeführt wurden (vgl. Kapitel 4.1.6).

3.3.1 Frischkäse

Frischkäse zählt zu den nichtreifenden Käsesorten, die aus pasteurisierter und im Fettgehalt eingestellter Milch oder Buttermilch unter Verwendung von Mikroorganismen und/oder proteolytischen Enzymen hergestellt werden [Tscheuschner 2004, S. 530]. Durchschnittlich enthält Frischkäse <10-70% Fett in der Trockenmasse (Fett i.Tr.) und 39-40% Trockenmasse. Die Konsistenz variiert dabei von pastös (Speisequark) über schnittfest (Schichtkäse) bis körnig (Hüttenkäse). Der pH-Wert von Frischkäse liegt bei etwa 4,5 [Belitz et al. 2008, S. 546]. Nachfolgend werden zunächst die für die Herstellung von Käse wichtigsten Eigenschaften und Inhaltsstoffe der Kuhmilch beschrieben. Anschließend erfolgt die Erläuterung der Herstellung von Frischkäse am Beispiel von Speisequark, da dieser in den vorliegenden Untersuchungen eingesetzt wurde.

Milch ist eine O/W-Emulsion und besteht aus Wasser (87,6%), Proteinen (3,2%), Kohlenhydraten (4,6%, hauptsächlich Lactose), Lipiden (3,9%), Mineralstoffen (0,7%) sowie Salzen, Citronensäure, Enzymen, Vitaminen und Gasen. Das Milchprotein setzt sich aus 16% Molkenprotein (0,6% der Milch) und 84% Casein (2,6% der Milch) zusammen. Die Molkenproteine sind globulär und löslich im wässrigen Milieu. Sie bestehen hauptsächlich aus β -Lactoglobulin (45%), α -Lactalbumin (20%) sowie Proteosepepton (20%), Immunglobulinen (10%) und Serumalbumin (5%). Das Casein ist ein Phosphoprotein und unlöslich im schwach sauren Bereich (pH-Wert 4,6). Zum Casein zählen das α -Casein (42%), das β -Casein (28%) und das κ -Casein (14%). Die in der Milch enthaltenen Lipide sind Triacylglyceride, die in Form von Kügelchen oder Tropfen, die von einer Hülle oder Membran umschlossen sind, in der Milch vorliegen. Die Hülle besteht aus Phospholipiden und Membranproteinen sowie weiteren eingelagerten Substanzen, wie fettlöslichen Vitaminen.

Die Lipide liegen in der Milch als Emulsion, die Molkenproteine als kolloidale Lösungen und die Caseine in Form von Caseinmicellen als Suspension vor [Belitz et al. 2008, S. 517ff]. Das Casein in den Caseinmicellen ist über hydrophobe Wechselwirkungen und kolloidale Calciumphosphatbrücken miteinander verbunden. Dabei finden sich die κ -Caseine vornehmlich an der Micellenoberfläche und die α - und β -Caseine im Inneren der Micellen. Die hydrophoben Phosphatgruppen der α - und β -Caseine weisen dabei ins Innere und bilden somit den hydrophoben Kern der Micellen. Die hydrophilen Carboxylenden des κ -Caseins richten sich nach außen aus, womit sie als Lösungsvermittler wirken [Lucey 2002]. An die hydrophilen Carboxylenden des κ -Caseins setzen sich Ionen aus der Milch, womit eine sterische Schicht aus κ -Casein entsteht, die die Micelle gegen Koagulation in der Lösung stabilisiert [Tuinier und de Kruif 2002]. Wahrscheinlich ist das κ -Casein dabei nicht gleichmäßig verteilt auf der Oberfläche der Micellen. Untersuchungen haben gezeigt, dass die κ -Caseine in einer Mischung aus über Disulfidbrücken verbundenen Polymeren in verschiedenen Graden der Polymerisation vorliegen. Daher scheinen die κ -Caseine kleine Inseln auf der Oberfläche zu bilden, die von anderen Caseinen umgeben sind. Dies würde erklären, warum Enzyme, wie das Labenzym zur Käseherstellung und die Verdauungsenzyme (z.B. Trypsin) die Micellen trotz der Belegung mit κ -Casein angreifen können, womit die Milch dickgelegt oder verdaut werden kann [Dalgleish 1998]. Rein theoretisch können sich über hydrophobe Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen Submicellen bilden, die sich über Calciumphosphatbrücken zu Micellen zusammenschließen. Auf Basis dieser Theorie wurden verschiedene Untersuchungen durchgeführt. Die Ergebnisse wurden von Walstra [1999] ausgewertet und sprechen sowohl für als auch gegen diese Theorie. Somit geht der Autor davon aus, dass sich eine Mischung aus Submicellen und großen Micellen bzw. gemischten Micellen bildet.

Die Gelbildung bzw. die Destabilisierung des Micellensystems der Milch zur Käseherstellung kann enzymatisch oder durch Säuerung mit Hilfe von Mikroorganismen geschehen. Für die Herstellung von Speisequark wird die Milch mit Hilfe von Milchsäurebakterien dickgelegt. Dieser Prozess wird später ausführlich beschrieben. Bei der enzymatischen Dicklegung für die Herstellung von Käse wird Labenzym eingesetzt, dessen Hauptbestandteil das Chymosin ist. Dies bewirkt eine proteolytische Spaltung des κ -Caseins am Carboxylende in ein lösliches Glykopeptid und das unlösliche para- κ -Casein. Dadurch entfällt das κ -Casein als Lösungsvermittler, womit das para- κ -Casein calciumvermittelt ausfällt und durch hydrophobe Wechselwirkungen zu einem Gel aggregiert. Diese strukturelle Veränderung hat Einfluss auf die rheologischen Eigenschaften des Käses. So tritt die Synerese (Abscheidung der Molke, Verfestigung des Bruchs) hauptsächlich bei Labgelen aber nicht bei Säuregelen auf [Mellema et al. 2002].

Für die Herstellung von Speisequark wird Milch, die möglichst frei von Hemmstoffen sein und ein gutes Säurevermögen aufweisen sollte, ausgewählt und vorbehandelt [Spreer 2005, S. 504]. In der Regel wird die Milch bei 90 °C für 15 min oder bei 95 °C für 5 min erhitzt. Hemmstoffe sind Fremdstoffe, die das Wachstum und die Vermehrung von Mikroorganismen einschränken oder verhindern, wie beispielsweise Pestizidrückstände [Spreer 2005, S. 54]. Beim Vorbehandeln der Milch wird diese erhitzt, um eine Denaturierung der Molkenproteine herbeizuführen. Durch den Übergang von Molkenprotein in das Produkt kann die Wasserbindung im Gel und die Festigkeit verbessert sowie die Synerase gemindert werden [Spreer 2005, S. 504].

Im Anschluss an die Vorbereitung der Milch erfolgt das Dicklegen. Dabei wird die Milch auf die Bebrütungstemperatur von 28 °C eingestellt und mit einem Gemisch aus heterofermentativen Milchsäurebakterien als Starterkultur versetzt. Die Milchsäurebakterien bauen die Lactose zu Lactat ab, womit der pH-Wert in der Milch sinkt [Spreer 2005, S. 505]. Diese Säurebildung führt zu einer Destabilisierung der Micellenstruktur durch Auswanderung von Calciumphosphat und monomeren Caseinen. Die Micellen bleiben dabei annähernd gleich groß. Der größte Teil der Caseinfraction der Milch liegt als Caseinmicellen vor, die sich aus Casein, Calcium sowie weiteren Mineralstoffen wie Natrium zusammensetzen. Bei Annäherung des pH-Werts an den isoelektrischen Punkt der Caseine fallen die einzelnen Fraktionen nacheinander zwischen einem pH-Wert von 4,6 bis 4,8 aus. Die gelösten Caseine reassoziieren zusammen mit Natrium zu Micellen und bilden über Van-der-Waals-Kräfte ein stabiles und festes Gel mit kettenähnlichen Strukturen aus. Die Emulsion des Frischkäses wird somit durch Natrium-Caseinat stabilisiert. Diese Gelstabilität wird durch eingelagerte Lipidkügelchen unterbrochen, womit die Cremigkeit erhöht werden kann [Belitz et al. 2008, S. 525ff; de Kruif 1999].

Nach der Gellegung wird das Gel geschnitten, wobei sich die Molke vom Käsebruch trennt. Im großtechnischen Verfahren wird dieses Gemisch kontinuierlich mittels eines Quarkseparators zentrifugiert und die Molke vom Bruch getrennt. Dabei wird gleichzeitig die gewünschte Trockensubstanz des Speisequarks eingestellt. Anschließend wird der Speisequark auf eine Temperatur von ≤ 5 °C abgekühlt, womit ein Weiterentwickeln der Mikroorganismen verhindert sowie ein Übersäuern des Quarks vermieden werden soll. Zur Einstellung des Fettgehalts werden Rahm oder andere Lipidphasen zugegeben. Je nach Rezeptur können in die Lipidphase weitere fettlösliche Substanzen wie beispielsweise Vitamin E dispergiert werden oder dem Gesamtprodukt weitere Zutaten (Bsp. Salz, Fruchtzubereitungen, Kräuter) beigemischt werden [Spreer 2005, S. 506ff].

3.3.2 Mayonnaise

Mayonnaise ist eine O/W-Emulsion, die grundsätzlich aus Speiseöl (50-85%), Eidotter (5-10%), Essig, Kochsalz und Gewürzen hergestellt wird. Die Stabilisierung der Emulsion erfolgt über die im Eigelb enthaltenen Glycerophospholipide (v.a. Lecithin), Lipoproteine und Proteine. Diese wirken aufgrund ihrer Dipolarität und der Ausbildung eines Protein-Phospholipid-Komplexes als grenzflächenaktive Stoffe (vgl. Kapitel 3.2.2.1). Produkten mit niedrigerem Fettgehalt (<50%) können Stärke, Pektin, Agar-Agar oder andere Verdickungsmittel zugegeben werden. In Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Inhaltsstoffe liegt der pH-Wert der Mayonnaise zwischen 3,8 und 4,0 [Belitz et al. 2008, S. 570ff, 681; Flückiger 1966].

Zur Herstellung von Mayonnaise wird Eigelb mit Kochsalz, Essig sowie den Gewürzen verrührt und anschließend das Öl tropfenweise zugegeben und emulgiert. Durch die Zugabe von Kochsalz werden die in Granula enthaltenen Lipoproteine (HDL) gespalten, wodurch mehr grenzflächenaktive Stoffe an die Grenzflächen adsorbieren und eine dickere Lamelle ausgebildet wird. Dies führt zu einer erleichterten Ausbildung eines Netzwerkes. Des Weiteren führt die Zugabe von Kochsalz zu einer Erniedrigung der Energiebarriere der Grenzfläche, womit die Proteine leichter in das Netzwerk eindringen können. Die Oberflächenladung der Proteine ist durch Salzionen abgesättigt, so dass die Abstoßung der Proteinketten bei gleichartiger Ladung vermindert ist. Dies ermöglicht insgesamt die Ausbildung eines starken Netzwerkes [Ternes 2008, S. 629f]. Des Weiteren liegen die dispergierten Partikel (Öltropfen) in der Mayonnaise so dicht beieinander, dass zwischen ihnen Anziehungskräfte wirksam werden. Bei diesen handelt es sich beispielsweise um Van-der-Waals-Kräfte. Damit findet eine Verschiebung der einzelnen Teilchen erst bei Einwirkung entsprechend hoher Kräfte statt und die Emulsion beginnt zu fließen. Eine Mayonnaise wird daher auch im kolloidchemischen Sinn als Paste bezeichnet.

Eine Mayonnaise mit den klassischen Zutaten (Speiseöl, Eigelb, Essig, Kochsalz und Gewürze) benötigt für die Stabilität der Emulsion das richtige Verhältnis von Öl zu Eigelb. Nur wenn so viel Eigelb in der Emulsion vorhanden ist, dass der Lecithinkomplex die Ölpartikel insgesamt umhüllen kann, wird eine geeignete Stabilität erreicht. Bei einer Erhöhung des Dispersionsgrades, muss somit entsprechend mehr Eigelb zum Einsatz kommen, um die gleiche Stabilität zu erhalten. Untersuchungen haben zur Bildung einer stabilen Mayonnaise eine minimale Eigelbkonzentration von 6% und eine Mindestkonzentration an Öl von 75% ergeben [Flückiger 1966]. Darüber hinaus hängen die Viskoelastizität, die Emulsionsstabilität und die Partikelgröße der Mayonnaise mit dem pH-Wert sowie der Kochsalzkonzentration zusammen [Kim und Kinsella 1985; Kiosseoglou und Sherman 1983].

Zur Gewährleistung der Stabilität bei reduziertem Fettgehalt der Mayonnaise ist es möglich ein Stärkegel zur Stabilisierung einzusetzen. Dafür muss die Stärke zunächst verkleistert werden bevor sie mit den anderen Zutaten emulgiert wird. Das Stärkegel wird dabei als Dispersionsmittel benutzt. Den eigentlichen Fließcharakter der Emulsion bestimmt dann ausschließlich das Stärkegel. Zur Emulgierung von 50% Öl müssen dann ca. 4-5% Eigelb eingesetzt werden, um eine entsprechend stabile Emulsion mit gleicher Fließgrenze zu erhalten [Flückiger 1966]. Stärke ist ein Gemisch aus zwei Glucanen (Amylose und Amylopektin), wovon Amylose in langen kettenförmigen Molekülen und Amylopektin in stark verzweigten Molekülen vorliegt. Etwas 70% eines Stärkekorns ist amorph und ca. 30% kristallin. In den amorphen Bereichen findet sich Amylose und Amylopektin, während die kristallinen Bereiche überwiegend aus Amylopektin bestehen. Zur Verkleisterung von Stärke wird diese mit Wasser vermischt und auf $>80\text{ }^{\circ}\text{C}$ erhitzt. Beim Erwärmen der Suspension treten ab einer bestimmten Temperatur, der Verkleisterungstemperatur, irreversible Änderungen auf. Dabei diffundiert Wasser zunächst in die Stärkekörner, wodurch diese quellen. Die Stärkekörner nehmen 20-40 g Wasser/g Stärke auf und vergrößern ihren Durchmesser um 30-40%, dabei nimmt die Viskosität der Suspension zu. Gleichzeitig diffundiert ein Teil der Amylose aus dem Korn und geht in Lösung. Schließlich platzt das Korn, die Stärkekristalle schmelzen und bilden ein Polymernetzwerk aus. Bei Temperaturen $>100\text{ }^{\circ}\text{C}$ wird das Netzwerk aufgebrochen, wodurch eine Lösung aus Amylose und Amylopektin entsteht [Belitz et al. 2008, S. 322f]. Das Stärkenetzwerk beeinflusst damit sowohl die sensorischen und rheologischen Eigenschaften als auch die Stabilität von Emulsionen.

Die industrielle Herstellung von Mayonnaise erfolgt über ein zweistufiges Verfahren mittels hochtouriger Homogenisiermaschinen, die geschlossen und in der Regel unter Vakuum arbeiten. Dabei wird zunächst die wässrige Phase, bestehend aus Wasser, Stärke, Essig, Kochsalz und Gewürzen, mit dem Emulgator (Eigelb) vermischt. Anschließend wird diesem Gemisch allmählich das Öl einemulgiert [Flückiger 1966].

3.3.3 Pudding

Pudding ist allgemein ein mit Stärke abgebundenes Dessert [Ternes 2008, S. 1073]. Er ist eine O/W-Emulsion, die aus Milch, Zucker sowie Stärke hergestellt wird und einen pH-Wert von 6,5 aufweist. Im Bedarfsfall kann die Milch rekombiniert werden, um eine dem Endprodukt entsprechende Zusammensetzung zu erhalten. Der Pudding wird durch die Proteine der Milch (vgl. Kapitel 3.3.1) und zusätzlich durch verkleisterte Stärke (vgl. Kapitel 3.3.2) stabilisiert [Belitz et al. 2008, S. 517ff]. Für die Rekombination von Milch werden verschiedene getrocknete und konzentrierte Milchprodukte mit Wasser und/oder

flüssigen Milchprodukten gemeinsam verarbeitet. Damit können Produkte mit veränderter Zusammensetzung gewonnen werden. Beispielsweise kann so das Milchfett gegen andere Fette ausgetauscht werden. Die Herstellung erfolgt typischerweise über Emulgierprozesse [Spreer 2005, S. 333f]. Wird beispielsweise Milch aus Magermilchpulver und Wasser rekombiniert, so wirken die im Magermilchpulver enthaltenen Caseine, und Molkenproteine aufgrund ihres amphotereren Charakters als Emulgatoren, die die Grenzflächen in der Milchemulsion stabilisieren [Timmermann 2005, S. 27].

Die Herstellung von Pudding erfolgt über ein zweistufiges Verfahren, bei dem zunächst Zucker in Milch gelöst wird. Bei rekombinierter Milch muss diese vorab durch eine Emulgierung der Grundinhaltsstoffe hergestellt werden. Im Anschluss wird Stärke in kaltem Wasser dispergiert, verkleistert (vgl. Kapitel 3.3.2) und zuletzt mit der Milch verrührt. Pudding hat durch die verkleisterte Stärke eine wesentlich kompaktere Struktur als eine Creme, die in der Regel durch ganze Eier abgebunden wird [Ternes 2008, S. 1073].

3.4 Analytische Charakterisierung

3.4.1 Verteilungskoeffizient

Der Verteilungskoeffizient gibt an, in welchem Maße bestimmte Inhaltsstoffe in den unterschiedlichen polaren Phasen einer Emulsion löslich sind bzw. sich zwischen den Phasen verteilen. Damit können die Stoffübergangseigenschaften bestimmt werden. Dabei werden die Phasen der zu untersuchenden Emulsion mittels Zentrifugation getrennt. Die Konzentration der entsprechenden Substanz wird jeweils in der Öl- und Wasserphase mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (high performance liquid chromatography, HPLC) analytisch bestimmt. Anschließend wird die Differenz zwischen der analysierten Gesamtkonzentration und der ursprünglich enthaltenen Konzentration ermittelt. Damit kann der Anteil der Substanz bestimmt werden, der sich aller Wahrscheinlichkeit nach in den Grenzflächen befindet [Bindrich 2007; Pongcharoenkiat et al. 2002].

3.4.2 Partikelgrößenverteilung

Wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben ist die Tröpfchengröße der entscheidende Einflussfaktor auf die Stabilität einer Emulsion. Daher sollte zur Charakterisierung einer Emulsion die Tröpfchengrößenverteilung bestimmt werden. Die Partikelgrößen sind sowohl von den Herstellungsbedingungen sowie von dem Emulgatorsystem abhängig [Windhab 2005,

S. 137]. Von der Partikelgrößenverteilung kann die spezifische Grenzfläche abgeleitet werden, die den Dispersitätszustand der Emulsion beschreibt [Pohl 2005, S. 45f].

Die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung kann mit Hilfe verschiedener Methoden wie Laserbeugung, Photonenkorrelation, Laserabtastung o.ä. erfolgen. Die Auswahl des Messprinzips wird nach bestimmten Kriterien durchgeführt. Dazu zählen Feinheitsmerkmale, Teilchenform, Messbereich, Zeitbedarf, Arbeitsaufwand und Gerätekosten [Windhab 2005, S. 145f]. Bei den vorliegenden Emulsionen handelt es sich um Systeme, bei denen die Öltröpfchen aufgrund der Minimierung der freien Oberflächenenergie in Kugelform vorliegen, was für die Laserbeugungsspektroskopie ideale Bedingungen darstellt. Beim Laserbeugungsverfahren wird aus dem Beugungsmuster der in der Messzone weitgehend vereinzelt vorliegenden Partikel auf deren Größenverteilung geschlossen. Entscheidend für die Richtigkeit der Messwerte sind die Lichtdurchlässigkeit der kontinuierlichen Phase sowie eine ausreichend niedrige Konzentration der Partikel in der Messzone. Die Intensitätsverteilung des gebeugten Laserlichts wird in Abhängigkeit des radialen Abstandes von der optischen Achse gemessen. Dabei beugen kleine Partikel das Licht mit geringer Intensität um große Winkel, während große Partikel das Licht mit großer Intensität um kleine Winkel beugen. Aus dem Beugungsmuster wird die Partikelgrößenverteilung berechnet, welches bei den an ein Computersystem angeschlossenen Laserbeugungsspektrometern selbstständig mittels der Mie-Theorie durchgeführt wird [Sainani et al. 2004; Windhab 2005, S. 151f]. Die Mie-Theorie ist die mathematische Beschreibung der Streuung elektromagnetischer Wellen an sphärischen Objekten. Sie geht auf die Rayleigh-Streuung zurück, die speziell die Streuung elektromagnetischer Wellen an kugelförmigen Teilchen beschreibt [Tipler 1994, S. 1292f].

Mit Hilfe der Volumenverteilung der Partikel kann, bei bekannter Dichte der kontinuierlichen und der dispersen Phase die spezifische Grenzfläche der dispersen Phase als integraler Wert [m^2/g] ermittelt werden. Dies wird von den Laserbeugungsspektrometern ebenfalls selbstständig berechnet. Je kleiner die Tropfengrößen desto größer ist die spezifische Grenzfläche, an der Stoffübergangsvorgänge stattfinden können. Zur weiteren Charakterisierung der Partikelgrößenverteilung kann der prozentuale Anteil des Tropfenvolumens, der kleiner ist als ein bestimmter Tropfendurchmesser, angegeben als $X_{\%}$ ermittelt werden [Euston et al. 2001; Michels et al. 2008].

3.4.3 Emulsionsstabilität

Die Stabilität eines dispersen Systems wird durch die Stabilität der Grenzfläche bestimmt. Bei einer zeitlichen Instabilität der Grenzflächen kommt es durch Koaleszenz der dispersen Phase zu einer Veränderung des Tröpfchengrößenspektrums. Im extremen Fall

kommt es zur Phasentrennung, d.h. zur Entmischung des Systems. Für die Stabilität der Tropfen in einer O/W-Emulsion ist im Wesentlichen der Zustand der aggregierten Proteine (Emulgatoren) verantwortlich [Castellani et al. 2005].

Die Stabilität der Grenzfläche wird als das Verhältnis der nach sieben Tagen bestimmten spezifischen Grenzfläche (vgl. Kapitel 3.4.2) zur spezifischen Grenzfläche der dispergierten Ölphase der gerade hergestellten Emulsion ermittelt. Bei gleich bleibender Emulsionsstabilität ist die Stabilität der Grenzfläche (S_{GF}) gleich eins, bei abnehmender Stabilität ist S_{GF} kleiner als eins [Euston und Hirst 2000].

3.4.4 Extrahierbarer Fettanteil

Die Intensität von Stoffaustauschprozessen zwischen den Phasen ist in dispersen Systemen stark vom Zustand der Grenzflächen abhängig. Bei O/W-Emulsionen kann dieser mittels des extrahierbaren Fettanteils (EFA) charakterisiert werden. Dieser beschreibt die Durchlässigkeit der Grenzfläche und kann als Hinweis der Zugänglichkeit der Ölphase für die Verdauungsenzyme genutzt werden. Hierbei wird ermittelt wie viel Fett durch ein unpolares Lösungsmittel aus der dispersen Phase herausgelöst werden kann. Der extrahierbare Fettanteil wird angegeben in g/100 g Fett. Die Menge des extrahierbaren Fettes dient als Maß für dessen Agglomerationsgrad und ist abhängig von der Art und Menge des eingesetzten Emulgators. Je dichter und beständiger eine Phasengrenzfläche mit grenzflächenaktiven Stoffen belegt ist, umso geringer ist der extrahierbare Fettanteil. Der EFA wird wie folgt berechnet [Kielmeyer und Schuster 1986]:

$$\text{Freier – Fett – Gehalt[\%]} = \frac{\text{AuswaageFett[g]} \cdot 100 \cdot 100}{\text{Gesamtfettgehalt[\%]} \cdot \text{Einwaage[g]}}$$

3.4.5 Oberflächentopographie

Die Untersuchung der Oberflächentopographie dient der optischen Beschreibung der Emulsion. Dazu zählt die Form und Oberfläche der Teilchen, die Konzentration bestimmter Inhaltsstoffe in der Matrix und deren Verteilung. In dieser Arbeit wurde die Cryo-Raster-Elektronenmikroskopie (REM) genutzt, bei der die Probe ohne chemische Präparation und Trocknung untersucht werden kann. Bei dieser Methode wird ein bestimmtes Probenvolumen in unterkühltem flüssigem Stickstoff schlagartig bei extrem niedrigen Temperaturen (cryogen) eingefroren. Durch diesen starken Temperaturgradienten sind die entstehenden Eiskristalle sehr viel kleiner als die zu untersuchenden Strukturelemente. Außerdem verhindert die sehr geringe Viskosität der eingefrorenen

Probe einen Stofftransport innerhalb der Präparations- und Untersuchungszeit, was das Auftreten von Artefakten verhindert. Im Anschluss an das Einfrieren wird die Probe gebrochen. Spröde Proben brechen vorzugsweise an der Phasengrenze, was dem Auffinden von Fetttropfchen entgegenkommt. Das Wasser an der Probenoberfläche wird mittels Sublimation entfernt, die Probe mit energiereichen Goldionen beschossen und im gefrorenen Zustand mittels REM untersucht. Abschließend erfolgt die optische Auswertung der gewonnenen Bilder der Probenoberfläche [Moinard-Chécot et al. 2008]. Abbildung 6 zeigt beispielhaft die Struktur von Rahmfrischkäse.

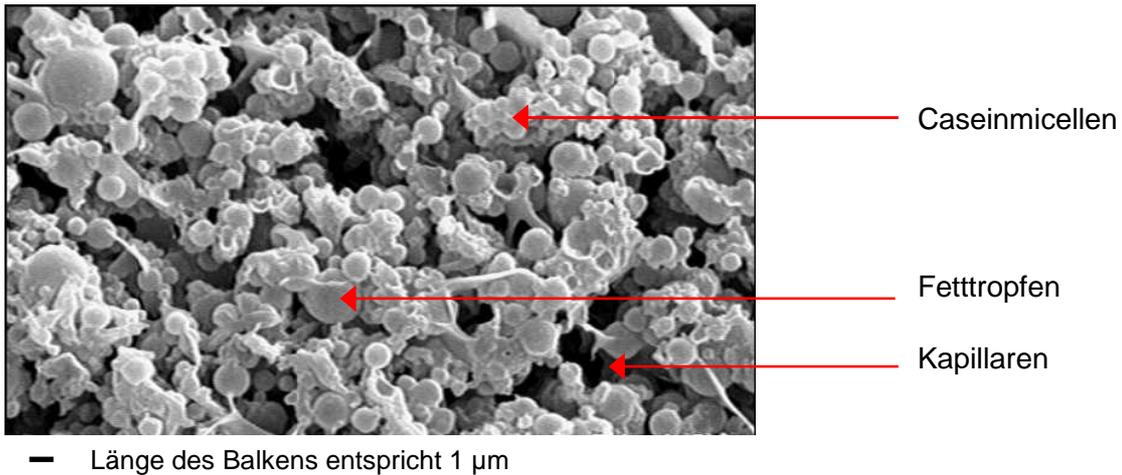


Abbildung 6: Struktur von Rahmfrischkäse (Quelle: Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V.)

3.4.6 Strukturcharakterisierung

Die Charakterisierung der Oberflächenstruktur erfolgt zur quantitativen Beschreibung der Verteilung der Inhaltsstoffe in einem Mehrphasensystem sowie zur Veranschaulichung der Wechselwirkungen zwischen den Phasen und den eingesetzten Stabilisatoren. Bei einer O/W-Emulsion ist dazu die Fluoreszenzmikroskopie (Confocale Laser Scanning Microscopy, CLSM) geeignet. Bei dieser werden Makromoleküle selektiv mit fluoreszierenden Substanzen angefärbt, welche anschließend durch einen Laserstrahl angeregt werden und Licht emittieren. Bei der Untersuchung wird der Laserstrahl jeweils auf einer Ebene im Raum fokussiert, wodurch ein optischer Schnitt entsteht [Gaygadzhiev et al. 2009]. In den vorliegenden Lebensmittelemlusionen bot es sich an, die Fette und Proteine anzufärben und die Verteilung dieser Makromoleküle innerhalb des Systems quantitativ zu beschreiben.

3.4.7 Rheologische Eigenschaften

Für die Sensorik von Lebensmitteln sind die rheologischen Eigenschaften von Bedeutung [Tscheuschner 1993, S. 51]. Die rheologischen Merkmale, wie Viskosität und Klebeeigenschaften werden durch die sichtbare Viskosität und/oder die Fließkurvenparameter erklärt und mit Hilfe rheologischer Messverfahren dargestellt. Dazu zählt das Fließverhalten, was durch die Fließ- bzw. Viskositätsfunktion beschrieben wird. Hierzu kann zum einen ein Fließversuch und zum anderen ein Oszillationsversuch durchgeführt werden [Maruyama et al. 2007; Windhab 1993, S. 174]. Die zugrundeliegende Theorie für diese Versuche ist die, dass die Viskosität (η) negativ mit dem Grad der Scherbeanspruchung zusammenhängt [Campanella und Peleg 1987; Munoz und Sherman 1990].

Beim **Fließversuch** wird eine relativ große Deformation hervorgerufen, welche eine Aussage über den Textureindruck im Mund zulässt. Bei dieser Analyse erfolgt eine makroskopische Deformation mit zunehmender Scherbeanspruchung. Strukturelemente, die sich bei dispersen Systemen zwischen verschiedenen Phasen ausgebildet haben sowie molekulare Wechselwirkungen zwischen Makromolekülen werden bei hohen Scherfällen gebrochen sowie stark reduziert. Als Folge ergibt sich daraus die Fließfunktion, die die effektive Viskosität in Abhängigkeit des Schergefälles darstellt. Für quantitative Aussagen zum Fließverhalten werden die Messwerte an ein geeignetes mikrorheologisches Fließgesetz angepasst. Im Allgemeinen wird dazu ein Rotationsrheometer eingesetzt, bei dem die Scherung des zu untersuchenden Fluids zwischen konzentrischen, rotationssymmetrischen relativ zueinander bewegten Messwerkzeugen erfolgt, welche einen definierten Scherspalt ausbilden. Über die Drehzahl des rotierenden Messkörpers wird in Abhängigkeit von der Scherspaltweite die Beanspruchung des Fluids festgelegt. Das daraus resultierende Drehmoment wird am rotierenden oder ruhenden Teil des Messspaltes gemessen und ist proportional zur Schubspannung. Ein gebräuchliches System ist die Kegel/Platte-Anordnung, bei der das Fluid auf eine Platte aufgetragen wird und das kegelförmige Messsystem rotiert [Campanella und Peleg 1987; Fighi und Shoemaker 1983; Windhab 1993, S. 198ff].

Der **Oszillationsversuch** dient der Bewertung der rheologischen Eigenschaften im makroskopisch unbewegten Zustand. Die hervorgerufene Deformation ist geringer als beim Fließversuch und die erhaltenen Daten können für eine Beurteilung der Lagereigenschaften genutzt werden. Die Messungen erfolgen im linear viskoelastischen Bereich, in dem sich Spannung und Dehnung zueinander proportional verhalten. Eine Grundvoraussetzung für die Messung sind elastische Wechselwirkungen zwischen den Komponenten des Systems. Der Versuch wird ebenfalls mit einem Rotationsrheometer durchgeführt. Hierbei bleibt die Scherbeanspruchung gleich, erfolgt jedoch periodisch mit

unterschiedlichen Frequenzen. Aus dem Oszillationsversuch ergibt sich die Oszillationsfunktion, die die Veränderung des Speichermoduls in Abhängigkeit der Frequenz darstellt. Der Speichermodul stellt dabei die Spannung dar, die erforderlich ist, um eine reversible Deformation zu erzeugen bzw. die innere Struktur elastisch zu dehnen [Munoz und Sherman 1990; Peressini et al. 1998; Windhab 1993, S. 176].

4 Material und Methoden

4.1 Allgemeines

Ziel der hier dargelegten Untersuchungen war es, mit Vitamin E angereicherte emulsionsbasierte Modelllebensmittel und isolierte Emulsionen so zu optimieren, dass das enthaltene Vitamin E eine möglichst große Bioverfügbarkeit aufweist. Durch diesen Optimierungsprozess ergaben sich die nachfolgend aufgelisteten Studienphasen. In diesen wurden jeweils die Prüfprodukte technologisch modifiziert und die Bioverfügbarkeit mittels Biokinetikuntersuchungen bestimmt. Die Modifizierung erfolgte jeweils auf Grundlage der Ergebnisse der vorhergehenden Studienphase. Darüber hinaus sollte der Frage nachgegangen werden, inwieweit die technologischen Charakteristika der Matrices Rückschlüsse auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus Emulsionen zulassen.

Tabelle 9: Übersicht der Studienphasen mit Studiendesign, verabreichten Prüfprodukten und untersuchtem Einflussfaktor auf die Bioverfügbarkeit

	Studiendesign	Prüfprodukte	Einflussfaktor
I	Kurzzeitkinetik	Lebensmittel mit α -Tocopherol angereichert Frischkäse, Mayonnaise, Pudding	Lebensmittelmatrix
II	Kurzzeit- und Langzeitkinetik	Lebensmittel mit α -Tocopherol angereichert Frischkäse, Mayonnaise	Lebensmittelmatrix
III	Kurzzeitkinetik	Frischkäse mit α -Tocopherol angereichert drei unterschiedliche Partikelgrößen	Partikelgröße
IV	Kurzzeitkinetik	Emulsionen mit α -Tocopherol angereichert zwei verschiedene pH-Werte Reinform und getrocknet	pH-Wert Trocknung

Nachfolgend werden das Studiendesign, das Studienkollektiv, der Studienablauf, die Erhebungsinstrumente sowie die allgemeinen technologischen Verfahren zur Herstellung der Prüfprodukte, die alle Studienphasen grundsätzlich betreffen, beschrieben. Im Anschluss werden die in den einzelnen Studienphasen von den allgemeinen Bedingungen abweichenden Punkte aufgeführt und erläutert.

4.1.1 Studiendesign

Die Studien wurden als monozentrische, offene und vergleichende Biokinetikuntersuchungen durchgeführt. Bei allen Untersuchungen, bis auf die zweite Studienphase (Parallelgruppenvergleich (vgl. Kapitel 4.3)), handelte es sich um ein Cross-over-Design. Das bedeutet jeder Proband erhielt im Laufe der jeweiligen Untersuchung jedes der mit

60 mg RRR- α -Tocopherol angereicherten Prüfprodukte. Die Studienvorhaben wurde zur ethischen Begutachtung der Freiburger Ethik-Kommission international vorgelegt und von dieser mit einem positiven Votum am 03. September 2007 genehmigt.

4.1.2 Studienkollektiv

In die Studien wurden gesunde Personen im Alter von 18-50 Jahren eingeschlossen. Bei den Kurzzeitkinetik-Untersuchungen (Studienphasen I, II, III, IV; vgl. Kapitel 4.2, 4.3, 4.4, 4.5) wurden, aufgrund der geringen Teilnehmerzahl von 5-10 Personen, nur männliche Probanden aufgenommen. Dies erfolgte, um zum einen mögliche zyklusbedingte Schwankungen der Serumspiegel und zum anderen geschlechtsspezifische Abweichungen auszuschließen. Im Rahmen der Langzeitkinetik-Untersuchung der zweiten Studienphase (vgl. Kapitel 4.3) wurden 21 männliche und weibliche Personen rekrutiert.

Die Studienteilnehmer sollten ein normales Lipidprofil aufweisen, um mögliche Verzerrungen hinsichtlich der Vitamin-E-Plasmaspiegel ausschließen zu können. Raucher wurden nicht in die Untersuchungen aufgenommen, da Studien Unterschiede in der Vitamin-E-Biokinetik von Rauchern und Nichtrauchern gezeigt haben [Bruno et al. 2005; Proteggente et al. 2006]. Außerdem wurden Personen mit chronischen Erkrankungen (Niere, Leber, Lunge, kardiovaskuläre Erkrankungen oder andere schwerwiegende internistischen Erkrankungen, insbesondere Malignome), mit Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts (spezielle Dünndarm, Leber, Pankreas) sowie mit Zuständen nach operativen Eingriffen am Verdauungstrakt von der Prüfung ausgeschlossen. Weiterhin wurden Personen mit diagnostizierter zystischer Fibrose, chronischer aktiver Hepatitis, chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, A- β -Lipoproteinämie, Vitamin-E-Resorptionsdefekt sowie Lipidresorptionsstörungen nicht in die Studien eingeschlossen. Zu den weiteren Ausschlusskriterien zählten ärztlich verordnete Vitamin-E-Medikation, die Einnahme von Eisenpräparaten, Alkohol- und Drogenabhängigkeit sowie die Einnahme von Laxanzien. Aus Sicherheitsgründen wurden auch Personen mit Blutgerinnungsstörungen und solche, die gerinnungshemmende Medikamente einnahmen, als nicht für die Studien geeignet bewertet.

Die Überprüfung der Kriterien erfolgte bei der ersten mündlichen Kontaktaufnahme sowie durch einen Fragebogen (*CRF-Screening* siehe Anhang). Zudem wurden die Probanden in der *Information für Studienteilnehmer* (siehe Anhang) über die Teilnahmebedingungen informiert. Somit erfolgte die Aufklärung über die Studieninhalte, -anforderungen und -risiken sowohl in mündlicher als auch in schriftlicher Form. Nachfolgend sind die Ein- sowie Ausschlusskriterien noch einmal ausführlich aufgeführt.

Einschlusskriterien

- gesunde, einwilligungsfähige männliche Kaukasier (in der Langzeitkinetik der Studienphase II auch weibliche) im Alter zwischen 18 und 50 Jahren mit einem normalen Lipidprofil
- Körpermassenindex (Body Mass Index, BMI) 18,5-24,9 kg/m²
- Fähigkeit und Bereitschaft der Studienteilnehmer, den Anweisungen des Prüfers und des Arztes zu folgen (Einhalten der Studien- sowie Ernährungsbedingungen vor und während der Untersuchungszeit, etc.)
- schriftliche Einwilligung der Probanden nach ausführlicher mündlicher und schriftlicher Aufklärung über die Studieninhalte, -anforderungen und -risiken

Ausschlusskriterien

- Allergien gegen eines der über den Tag verabreichten Nahrungsmittel
- ärztlich verordnete Vitamin-E-Medikation
- Einnahme von Eisenpräparaten
- Vitamin-E-Resorptionsdefekt, Lipidresorptionsstörungen
- chronische Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts (speziell Dünndarm, Leber, Pankreas) sowie Zustand nach operativen Eingriffen am Gastrointestinaltrakt: z.B. Gastrektomie, Sprue, Enterokolitis, chronische Pankreatitis, Cholestase, Kurzdarmsyndrom, chronisch entzündliche Darmerkrankungen
- diagnostizierte cystische Fibrose, chronische aktive Hepatitis, Fettstoffwechselstörung, A-β-Lipoproteinämie
- diagnostizierte Gerinnungsstörung und/oder Einnahme gerinnungshemmender Medikamente (z.B. Marcumar®)
- vorhandene chronische Nieren-, Leber-, Lungen- oder kardiovaskuläre Erkrankungen sowie andere schwerwiegende internistische Erkrankungen, insbesondere Malignome
- Raucher
- Alkohol-, Drogen- und/oder Medikamentenabhängigkeit
- Einnahme von Laxanzien
- unmittelbare Notwendigkeit eines chirurgischen Eingriffs
- gleichzeitige Teilnahme an einer anderen klinischen Studie bzw. Teilnahme innerhalb der vergangenen 30 Tage
- nicht einwilligungsfähige Probanden
- Verweigerung bzw. Rücknahme der Einwilligung durch den Probanden

4.1.3 Studienablauf

Die Studien setzten sich jeweils aus einer Rekrutierungsphase, einer 14-tägigen Depletionsphase sowie bei den Kurzzeitkinetik-Untersuchungen (Studienphasen I, II, III, IV; vgl. Kapitel 4.2, 4.3, 4.4, 4.5) aus den Behandlungsperioden (24 h) und den Auswaschphasen zwischen den Behandlungsperioden (jeweils eine Woche) bzw. bei der Langzeitkinetik-Untersuchung der Studienphase II (vgl. Kapitel 4.3) aus einer Behandlungsperiode von vier Wochen zusammen. Nachfolgende Abbildung gibt einen Überblick zu dem allgemeinen Studienablauf.

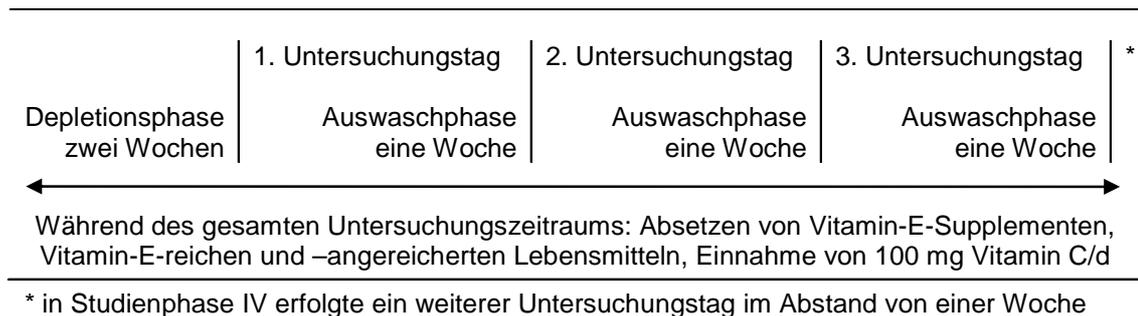


Abbildung 7: Übersicht Studienablauf

Die **Rekrutierung** der Probanden erfolgte über Aushänge an der Leibniz Universität Hannover. Interessierte Personen wurden zunächst mündlich über das Ziel und den Ablauf der Untersuchung aufgeklärt und erhielten anschließend eine ausführliche Teilnehmerinformation sowie einen Screening-Fragebogen (*Information für Studienteilnehmer* und *CRF-Screening* siehe Anhang). In letzterem wurden die persönlichen und anthropometrischen Daten sowie das nicht Vorhandensein von Ausschlusskriterien erfasst. Die Erfassung der anthropometrischen Daten (Gewicht und Größe) diente der Berechnung des Energiebedarfs der einzelnen Teilnehmer und damit der individuellen Anpassung der Tageskostpläne für die Untersuchungstage. Die Personen, die anhand der Ein- und Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Untersuchung in Frage kamen und die weiterhin Interesse hatten, wurden anschließend gebeten sich schriftlich zur Teilnahme bereit zu erklären (*Einwilligungserklärung* siehe Anhang). Überdies erhielten sie einen retrospektiven Fragebogen zur Dokumentation ihrer durchschnittlichen Vitamin-E-Aufnahme bzw. Verwendung von Vitamin-E-reichen Lebensmitteln (*Ernährungserhebung* siehe Anhang, vgl. Kapitel 4.1.4.2).

Zur Gewährleistung möglichst einheitlicher α -Tocopherol-Serumspiegel wurden die Teilnehmer angewiesen während der **Depletionsphase**, d.h. zwei Wochen vor der ersten Blutentnahme und während des gesamten Untersuchungszeitraums, Supplemente mit Vitamin E abzusetzen sowie Vitamin-E-reiche und -angereicherte Lebensmittel zu meiden

(siehe *Information für Studienteilnehmer* siehe Anhang). Die Teilnehmer erhielten dazu eine Übersicht über Vitamin-E-reiche Lebensmittel. Vitamin C wird für die Regeneration von metabolisiertem Vitamin E benötigt (vgl. Kapitel 2.4). Zur Sicherstellung ebenfalls einheitlicher Vitamin-C-Serumkonzentrationen wurden die Studienteilnehmer gebeten, täglich 100 mg Vitamin C einzunehmen. Das Vitamin-C-Präparat wurde mit Hinweisen zur Einnahme (einmal täglich) vom Institut für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie der Leibniz Universität Hannover zur Verfügung gestellt.

Nachfolgend werden die **Behandlungsperioden** der Kurzzeitkinetik-Untersuchungen über jeweils 24 h (Studienphasen I, II, III, IV; vgl. Kapitel 4.2, 4.3, 4.4, 4.5) genauer beschrieben, da diese in der vorliegenden Arbeit überwiegend durchgeführt wurden. Detaillierte Ausführungen zum Ablauf der Langzeitkinetik-Untersuchung der zweiten Studienphase finden sich in Kapitel 4.3. Zu den Kurzzeitkinetik-Untersuchungen erschienen die Teilnehmer morgens nüchtern im Institut. Zur Bestimmung des Nullwertes folgte eine Nüchternblutentnahme. An den jeweils ersten Untersuchungstagen wurden Körpergewicht und Körpergröße ermittelt. Weiterhin wurden die Teilnehmer gebeten einen Fragebogen (*Patientendokumentationsbogen (CRF)* siehe Anhang) auszufüllen. Mit Hilfe dessen wurden aktuell der Gesundheitszustand, die Medikamenteneinnahme sowie die Compliance bzgl. der Depletion von Vitamin E erfasst. Unmittelbar nach der Nüchternblutentnahme erhielten die Teilnehmer jeweils eins der zu untersuchenden mit 60 mg RRR- α -Tocopherol angereicherten Prüfprodukte im Rahmen eines Lipid- und Vitamin-E-standardisierten Frühstücks. Das Frühstück bestand aus zwei Brötchen mit Butter, wovon das eine mit Gouda und das andere mit Kochschinken belegt waren. Die Mahlzeit enthielt 1,3 mg Vitamin E sowie 30,1 g Fett. Die Zuordnung des entsprechenden funktionellen Lebensmittels zum Untersuchungstag wurde nach dem Zufallsprinzip bestimmt. So erhielten alle Teilnehmer einmalig jedes Prüfprodukt. In definierten Zeitabständen über 24 h nach dem Frühstück erfolgten weitere Blutentnahmen. Die Zeitpunkte wurden so festgelegt, dass in der Zeit, in dem das Maximum der Absorption voraussichtlich erreicht wurde, die häufigsten Blutentnahmen erfolgten. Während für die Planung der ersten Untersuchung auf Literaturdaten zurückgegriffen wurde, nach der die maximale Serumkonzentration nach 6 h erreicht wird [Fairus et al. 2006], wurden in den weiteren Studienphasen die Zeiten für die Blutentnahmen jeweils entsprechend den Ergebnissen der vorangegangenen Studienphasen modifiziert.

In der Untersuchungszeit (24 h) wurden die Teilnehmer im Institut zu festgelegten Zeitpunkten mit energieadjustierten, Vitamin-E-armen Mahlzeiten versorgt. Der Energiegehalt der Kost richtete sich nach dem Gesamtenergiebedarf jedes Studienteilnehmers. Dieser errechnete sich aus dem Grundumsatz multipliziert mit einem Multiplikator für die körperliche Aktivität (physical activity level, PAL) und einem Faktor für die nahrungs-

induzierte Thermogenese. Der Grundumsatz errechnete sich nach der Formel von Harris & Benedict wie folgt [Harris und Benedict 1918]:

Männer: $66,5 + (13,8 \times \text{Körpergewicht [kg]}) + (5 \times \text{Größe [cm]}) - (6,8 \times \text{Alter [Jahre]})$

Frauen: $665,0 + (9,6 \times \text{Körpergewicht [kg]}) + (1,9 \times \text{Größe [cm]}) - (4,7 \times \text{Alter [Jahre]})$

Der PAL richtet sich nach der Arbeitsschwere bzw. dem durchschnittlichen Freizeitverhalten, was über den Screening-Fragebogen (*CRF-Screening* siehe Anhang) erfasst wurde. Der Grundumsatz multipliziert mit dem spezifischen PAL ergibt den Gesamtenergieumsatz. Zur Berücksichtigung der nahrungsinduzierten Thermogenese werden auf den Gesamtenergieumsatz 6% dazu addiert, woraus sich der Gesamtenergiebedarf ergibt [Pellett 1990].

Die Teilnehmer wurden angewiesen, die Mahlzeiten jeweils zeitnah und vollständig aufzuessen. Außerdem wurden sie gebeten, nur Wasser, Kaffee oder Tee zu trinken. Zur Gewährleistung einheitlicher Studienbedingungen durfte der Kaffee bzw. Tee nur schwarz oder mit Süßstoff getrunken werden. Zwischen den Blutentnahmen und den Mahlzeiten konnten sich die Teilnehmer frei bewegen.

Jeweils eine Woche nach der Untersuchung schloss sich die nächste Behandlungsperiode an, die jeweils nach dem gleichen Schema verlief. An den nachfolgenden Untersuchungstagen wurden mit Hilfe des *Patientendokumentationsbogens* (siehe Anhang) alle von den Studienteilnehmern beobachtete Befindlichkeitsstörungen, subjektiven und objektiven Krankheitssymptome sowie Unfälle – unabhängig von einem möglichen ursächlichen Zusammenhang mit den Prüfprodukten – als unerwünschte Ereignisse erfasst. Dabei wurde zwischen dem Auftreten von unerwünschten, nicht-ernsthaften Ereignissen (non-serious adverse events) und ernsthaften Komplikationen (serious adverse events, SAE) unterschieden. Zu den SAE zählen folgende Ereignisse:

- Tod eines Teilnehmers
- Lebensbedrohliche Ereignisse und Unfälle
- Krankenhausaufenthalte und Operationen
- Ereignisse die zu dauerhafter Invalidität des Studienteilnehmers führen
- Angeborene Anomalien

Ferner wurden wichtige medizinische Ereignisse, die nicht mit dem Tode enden, nicht lebensbedrohliche sind oder zur Hospitalisierung führen, als SAE angesehen, wenn sie den Probanden gefährden oder eine medizinische oder chirurgische Intervention erfordern, um eines der aufgelisteten Ereigniskriterien zu verhindern.

4.1.4 Erhebungsinstrumente

4.1.4.1 Anthropometrische Daten

Die bei diesen Untersuchungen erhobenen anthropometrischen Kenndaten waren Körpergröße und -gewicht. Die Messung der Körpergröße wurde ohne Schuhe an einer genormten Messlatte durchgeführt. Zur Erhebung des Körpergewichts wurde eine geeichte elektronische Personenwaage der Firma SECA benutzt. Somit konnten standardisierte und vergleichbare Werte erfasst werden. Die Gewichtsbestimmung war nicht vollkommen exakt, da die Studienteilnehmer bekleidet waren. Für die Kollektivbeschreibungen ist diese Messmethode jedoch ausreichend. Aus den so erhaltenen Werten wurde anschließend der jeweilige BMI errechnet. Mit Hilfe des BMI kann das Körpergewicht beurteilt werden und wird aus dem Verhältnis von Körpergewicht [kg] zu Körpergröße zum Quadrat [m²] berechnet [Schutz 2004, S. 4].

4.1.4.2 Ernährungsprotokoll

Vornehmliches Ziel des Ernährungsprotokolls war es, die durchschnittliche Vitamin-E-Aufnahme zu erfassen, welches allein deskriptiven Charakter hatte. Die Bestimmung wurde mittels eines retrospektiven Verzehrshäufigkeitsfragebogens (*Ernährungserhebung (CRF Ernährung)* siehe Anhang) durchgeführt. Dieser wurde vom Institut für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie der Leibniz Universität Hannover entwickelt und richtete sich inhaltlich nach den üblicherweise verwendeten Verzehrshäufigkeitsfragebögen. Der gebräuchlichste ist dabei der in der internationalen European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Studie) verwendete Verzehrshäufigkeitsfragebogen (Food Frequency Questionnaire, FFQ).

Der hier verwendete Fragebogen setzte sich aus zwei Abschnitten zusammen. Zunächst wurde die Häufigkeit des Verzehrs von bestimmten Vitamin-E-reichen Nahrungsmitteln erfasst. Die Auswahl dieser Nahrungsmittel erfolgte anhand einer einschlägigen Nährwert-Tabelle [Souci et al. 2008]. Im nachfolgenden Teil wurde die Verwendungsart pflanzlicher Fette und Öle, die Aufnahme von Nahrungsergänzungsmitteln, angereicherten Nahrungsmitteln und Getränken erfasst. Die Erfragung der Verwendungsart diente der Beurteilung der Menge an Vitamin E, die bei der Verwendung im Haushalt tatsächlich aufgenommen werden kann. Beispielsweise würde Vitamin E in Pflanzenöl zerstört werden, wenn es zum Braten bei hohen Temperaturen verwendet wird (vgl. Kapitel 2.2).

Mit Hilfe dieses Fragebogens konnten nur annähernde Werte für die tägliche Aufnahmemenge an Vitamin E bestimmt werden. Die Auswertung richtete sich daher danach, ob

eine Person mit ihrer durchschnittlichen Ernährungsweise den Grundbedarf von 6 mg bzw. die Zufuhrempfehlung von 12-15 mg (vgl. Kapitel 2.5) erreichen konnte. Somit ergaben sich drei Kategorien, die in niedrige Zufuhr an Vitamin E (< 6 mg/d), mittlere Zufuhr an Vitamin E (6-11,9 mg/d) und hohe Zufuhr an Vitamin E (≥ 12 mg/d) eingeteilt wurden. Jedem einzelnen Punkt des Fragebogens wurde entsprechend dem Gehalt an Vitamin E in einer üblichen Portionsgröße des Nahrungsmittels die entsprechende Kategorie zugeordnet. Die einzelnen Punkte wurden anschließend summiert und die gesamte durchschnittliche Vitamin-E-Aufnahme bestimmt.

4.1.4.3 Blutentnahmen und Analyse biochemischer Parameter

Vor der ersten Blutentnahme am jeweiligen Untersuchungstag wurde das Einhalten der Nüchternheit der Studienteilnehmer erfragt. Anschließend wurden 9 ml Vollblut in eine 9 ml Serum-Monovette der Firma Sarstedt entnommen und bis zur präanalytischen Aufbereitung dunkel und kühl aufbewahrt. Im Rahmen der Präanalytik wurden zur Bestimmung der Serumparameter (α -Tocopherol, Triacylglyceride, Gesamtcholesterol, LDL- und HDL-Cholesterol) die mit Vollblut befüllten Serum-Monovetten zunächst für 20 min bei 5 °C im Kühlschrank aufbewahrt, um die Gerinnung zu ermöglichen. Die Serum-Monovetten der Firma Sarstedt enthalten einen Gerinnungsaktivator, der zu einer Beschleunigung des Gerinnungsvorgangs führt. Anschließend wurde die Monovette bei 2000 x g und 10 °C für 10 min zentrifugiert. Von dem Überstand wurden 2 ml in ein Sekundärgefäß gegeben und bis zur Bestimmung der Parameter durch die Laborärztliche Arbeitsgemeinschaft für Diagnostik und Rationalisierung e.V. (LADR) GmbH, Medizinisches Versorgungszentrum Hannover dunkel und kühl (5 °C) verwahrt. Das restliche Serum wurde in ein 1 ml Eppendorf-Gefäß gegeben und als Rückstellprobe bei -70 °C gelagert. Eine experimentelle Untersuchung hat gezeigt, dass das Einfrieren von humanen Serumproben über 6 Wochen keinen Einfluss auf den analysierten Gehalt an α -Tocopherol hat [Clevidence und Ballard-Barbash 1991].

Zur Analytik der Parameter wurden unterschiedliche Bestimmungsmethoden verwendet. In Tabelle 10 findet sich ein Überblick über die analysierten Parameter sowie die jeweiligen Bestimmungsmethoden. Anschließend folgt eine ausführliche Beschreibung der einzelnen Analysemethoden.

Tabelle 10: Bestimmungsmethoden der Parameter mit Probenmaterial und Messbereichen

Parameter	Bestimmungsmethode	Probenmaterial	Messbereich
α -Tocopherol	HPLC mit UV-Detektion ¹	Serum	0,0-104,4 mmol/l 0-45 mg/l
Gesamtriacylglyceride	Enzymatischer Farbttest	Serum	0,1-11,3 mmol/l 10-1000 mg/dl
Gesamtcholesterol	Enzymatischer Farbttest	Serum	0,5-18,0 mmol/l 20-700 mg/dl
LDL-Cholesterol	Enzymatischer Farbttest	Serum	0,26-10,3 mmol/l 10-400 mg/dl
HDL-Cholesterol	Enzymatischer Farbttest	Serum	0,05-4,65 mmol/l 2-180 mg/dl

¹ high performance liquid chromatography, Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie, die Detektion erfolgt mittels Ultraviolettstrahlung (UV)

α -Tocopherol

Die quantitative Bestimmung von α -Tocopherol im Serum erfolgte über eine HPLC mit UV-Detektion. Die HPLC ist ein chromatographisches Trennverfahren, bei dem die zu untersuchende Substanz zusammen mit einem Laufmittel (mobile Phase) durch eine Trennsäule, welche die stationäre Phase enthält, gepumpt wird. Durch mehr oder weniger starke Wechselwirkungen von Bestandteilen der zu untersuchenden Substanz laufen diese Bestandteile schneller oder langsamer durch die Säule und erscheinen somit früher oder später am Ende der Trennsäule. Damit erfolgt die Trennung der Substanzen. Mit Hilfe eines Standards (all-rac- α -Tocopherol) wird die Identifizierung und Quantifizierung mittels eines UV-Detektors bei 295 nm durchgeführt. Experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass die HPLC am besten für die Analyse der einzelnen Vitamin-E-Isomere geeignet ist [Nagy et al. 2007]. Vor allem für die Routinebestimmung von α -Tocopherol im Plasma und in den Erythrozyten überzeugt diese Methode durch Schnelligkeit, Spezifität, Sensitivität und Wiederholbarkeit [Gonzalez-Corbella et al. 1994].

Gesamtriacylglyceride

Für die quantitative Bestimmung der Gesamtriacylglyceride im Serum wurde ein enzymatischer Farbtest durchgeführt. Dabei werden die Triacylglyceride in der Probe zunächst durch eine Verbindung bakterieller Lipasen zu Glycerol und Fettsäuren hydrolysiert. Das Glycerol wird in Gegenwart von Glycerolkinasen mit Adenosintriphosphat zu Glycerol-3-Phosphat und Fettsäuren hydrolysiert. Anschließend wird das gebildete Glycerol-3-Phosphat mit Sauerstoffmolekülen in Gegenwart von Glycerolphosphatoxidasen zu Wasserstoffperoxyd und Dihydroxyacetonphosphat oxidiert. Das hierbei gebildete Wasserstoffperoxyd reagiert mit 4-Aminophenazon und N,N-bis(4-Sulfobutyl)-3,5-Dimethylanilin, Dinatriumsalz in Gegenwart von Peroxidasen und produziert einen blauen Farbstoff (Chromophor), der bei 660 oder 800 nm abgelesen wird. Der Extinktionsanstieg ist proportional zur Triacylglycerid-Konzentration der Probe [Olympus Life and Material Science Europa GmbH 2007a].

Gesamtcholesterol

Zur quantitativen Bestimmung des Gesamtcholesterols im Serum wurde ebenfalls ein enzymatischer Farbtest angewendet. Hierbei werden die Cholesterolester in der Probe durch Cholesterolesterase hydrolysiert. Das so gebildete freie Cholesterol wird durch Cholesteroxidase zu Cholesten-3-eins oxidiert bei gleichzeitiger Bildung von Wasserstoffperoxid, das sich oxidativ mit 4-Aminoantipyrin und Phenol im Beisein von Peroxidase verbindet, wodurch der rote Farbstoff Quinoneimin (Chromophor) entsteht. Die quantitative Bildung dieses Farbstoffs kann spektrometrisch bei 540 oder 600 nm als Extinktionsanstieg gemessen werden [Olympus Life and Material Science Europa GmbH 2007b].

LDL-Cholesterol

Auch die quantitative Bestimmung von LDL-Cholesterol erfolgte mittels eines enzymatischen Farbtests. Dabei wird zu der Probe ein Reagenz gegeben, welches die LDL-Partikel vor enzymatischen Reaktionen schützt. Alle weiteren Lipoproteine (Chylomikronen, VLDL, HDL) werden durch Cholesterolesterase und Cholesteroxidase zerlegt. Das hierbei gebildete Wasserstoffperoxid wird durch eine Katalase zersetzt. Durch die Zugabe eines zweiten Reagenz wird der schützende Wirkstoff aus dem Reagenz freigesetzt und die Katalase durch Natriumazid deaktiviert. Anschließend erfolgt die Quantifizierung des LDL-Cholesterols analog zu der des Gesamtcholesterols, wobei in

diesem Fall ein blauer Farbstoff (Chromophor) entsteht [Olympus Life and Material Science Europa GmbH 2007c].

HDL-Cholesterol

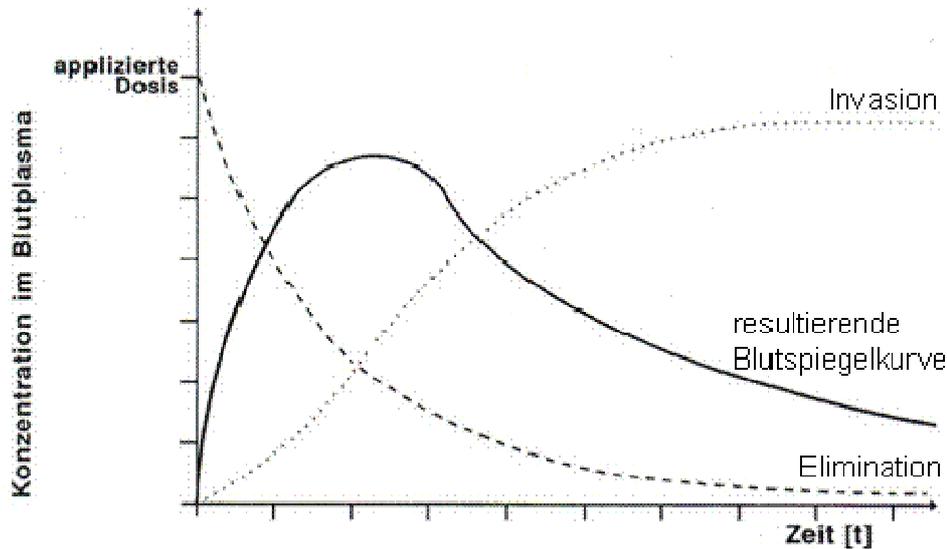
Zur quantitativen Bestimmung des HDL-Cholesterols wurde wiederum ein enzymatischer Farbtest verwendet. Bei diesem werden zu der Probe Anti-Human- β -Lipoprotein-Antikörper gegeben, die andere Lipoproteine als HDL (Chylomikronen, VLDL, LDL) binden. Die dadurch gebildeten Antigen-Antikörperkomplexe blockieren bei Zugabe des zweiten Reagenz die Enzymreaktionen, so dass nur das HDL weiter reagiert. Die Quantifizierung des HDL-Cholesterols erfolgt analog zu der des Gesamtcholesterols. Es entsteht dabei ein blauer Farbstoff (Chromophor) [Olympus Life and Material Science Europa GmbH 2007d].

4.1.5 Ermittlung biokinetischer Parameter

Ziel der Untersuchungen waren jeweils die Ermittlung und der Vergleich des Verlaufs der RRR- α -Tocopherol-Konzentrationen im Serum nach Gabe der entsprechend mit RRR- α -Tocopherol angereicherten Prüfprodukte. Dazu wurden folgende biokinetischen Parameter bestimmt. Der Verlauf der Konzentration von α -Tocopherol im Serum sowie der um die Gesamtcholesterol- bzw. der Summe aus Gesamtcholesterol- und Gesamt-triacylglycerid-Konzentration korrigierten Verläufe der α -Tocopherol-Konzentration im Serum. Aus den Flächen unter den Serumkonzentration-Zeit-Kurven (area under the concentration/time curve, AUC) wurden die Kinetiken ermittelt und die jeweiligen Prüfprodukte hinsichtlich ihrer Bioverfügbarkeit verglichen. Des Weiteren wurden die höchsten gemessenen Serumkonzentrationen der α -Tocopherol-Konzentrationen im Serum (c_{\max}) sowie die Zeit bis zum Erreichen von c_{\max} (t_{\max}) bestimmt.

Zur Abschätzung des Ausmaßes der Absorption von α -Tocopherol bzw. der absoluten Menge von α -Tocopherol im Blutkreislauf wurde der **AUC** bestimmt. Er ist der am häufigsten genutzte Parameter zur Beurteilung der Biokinetik von Substanzen. Der AUC ist ein ideales Instrument für vergleichende quantitative Studien. Der AUC ist ursprünglich unter dem Prinzip „Gesetz der korrespondierenden Flächen“ bekannt geworden: nach einmaliger Gabe einer Substanz lassen sich durch die Berechnung der Fläche unter der Bateman-Funktion Schlüsse auf die in den zentralen Blutkreislauf übergetretenen Stoffmengen ziehen. Als Voraussetzung dafür müssen Verteilungsvolumen und Eliminationskonstanten vergleichbar sein, was im vorliegenden Fall durch das Cross-over-Design der Untersuchungen gegeben ist [Kübler 2002b; Dost 1968, S. 156f]. Die

Bateman-Funktion (vgl. Abbildung 8) beschreibt den zeitlichen Verlauf der Konzentration einer Substanz im Blut. Sie resultiert aus der Differenz zweier simultaner Prozesse, der Invasion (Absorption) und der Elimination (Metabolisierung und Ausscheidung). Die Kurve sinkt nach einem anfänglichen Anstieg und Erreichen eines Maximums asymptotisch auf den Ausgangswert ab [Dost 1968, S. 38ff].



modifiziert nach Dost, S. 40 [1968]

Abbildung 8: Bateman-Funktion, Blutspiegelkurve bei gleichzeitig stattfindender Invasion und Elimination

Im vorliegenden Fall ergab sich die Fläche unter der Kurve aus dem Verlauf der Serumkonzentration an α -Tocopherol, α -Tocopherol/Gesamtcholesterol und α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Gesamttriacylglyceride vom Zeitpunkt der Nüchternblutabnahme über einen Zeitraum von 24 h bzw. 4 Wochen hinweg. Der AUC verhält sich proportional zur in den Blutkreislauf aufgenommenen Menge einer Substanz, wenn die Plasmakonzentrationen (c_i) um den Nüchternwert der Plasmakonzentration (c_0) an α -Tocopherol korrigiert wird (Niazi 2007, S. 23). Die Berechnung dieses biokinetischen Parameters erfolgte mittels der Sehnenrapezmethode. Dabei wird die Fläche unter der Kurve nach den Messzeitpunkten in mehrere Trapeze unterteilt, der Flächeninhalt der Trapeze berechnet und zum AUC addiert (Chow und Liu 1992, S. 6; Niazi 2007, S. 22f).

$$AUC_{0-24/4} = \sum_{i=1} \left(\frac{c_{i-1} + c_i}{2} \right) (t_i - t_{i-1})$$

$AUC_{0-24/4}$: AUC über einen Zeitraum von 24 h bzw. 4 w nach der Supplementierung, [(mg*h)/l bzw. $\mu\text{mol*w/l}$]

i: Blutprobe i

c_i : Konzentration von α -Tocopherol im Serum der Blutprobe i, [mg/l]

t_i : Zeitpunkt der Entnahme der Blutprobe i nach der Supplementierung, [h bzw. w]

Mit Hilfe der weiteren biokinetischen Parameter c_{\max} und t_{\max} kann die Absorptionsrate von α -Tocopherol abgeschätzt werden. Zur Bestimmung dieser Werte wurden die Serumkonzentrationen der einzelnen Studienteilnehmer zu den jeweiligen Blutentnahmezeitpunkten herangezogen. Die durchschnittlichen Werte für c_{\max} und t_{\max} ergaben sich aus der Berechnung des Mittelwertes von c_{\max} bzw. t_{\max} der einzelnen Studienteilnehmer. Um die Vergleichbarkeit dieser Parameter zu gewährleisten, wurden die Plasmakonzentrationen c_i um den Nüchternwert der Plasmakonzentration (c_0) korrigiert.

Der **Verlauf der Konzentration von α -Tocopherol im Serum** wurde nach der Aufnahme der jeweils mit 60 mg α -Tocopherol angereicherten Prüfprodukte über 24 h bzw. 4 Wochen analysiert, um die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Prüfprodukt zu verfolgen. Ebenso wurde der Verlauf der um die Gesamtcholesterol-Konzentration bzw. der Summe aus Gesamtcholesterol- und Triacylglycerid-Konzentration korrigierten α -Tocopherol-Serumspiegel bestimmt. Alle Serumkonzentrationen wurden um den Nüchternwert korrigiert, so dass jeweils der absolute Anstieg der Serumkonzentration nach Aufnahme des Prüfprodukts, d.h. die Differenz, betrachtet wurde.

Zur zusätzlichen Abschätzung des Ausmaßes der Absorption wurden die **prozentualen Anstiege der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol**, α -Tocopherol/Gesamtcholesterol und α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Gesamttriacylglyceride zwischen dem Nüchternwert (c_0) und der maximalen Serumkonzentration (c_{\max}) berechnet.

4.1.6 Herstellung der Prüfprodukte

Nachfolgend werden die Herstellungsverfahren sowie die Rezepturen der in den Untersuchungen eingesetzten Prüfprodukte dargestellt. Dabei handelt sich nicht um großtechnische Verfahren, sondern um Verfahren im Labormaßstab. Dies begründet sich darin, dass die Prüfprodukte zum einen erstmalig entwickelt wurden und zum anderen die jeweils geringe Anzahl der Portionen eine großtechnische Herstellung der Prüfprodukte nicht notwendig machte. Die Prüfprodukte wurden vom Deutschen Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (Quakenbrück, Deutschland) unter kontrollierten Bedingungen und Berücksichtigung aller hygienischen Standards jeweils am Vortag der Untersuchung hergestellt und gekühlt zum Institut für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie der Leibniz Universität Hannover (Deutschland) versendet. Durch die zur Verwendung zeitnahe Herstellung der Prüfprodukte konnte die Stabilität der eingesetzten Emulsionen gewährleistet werden (vgl. Kapitel 4.1.6.3).

Die Prüfprodukte waren jeweils mit 60 mg RRR- α -Tocopherol pro Portion angereichert. Eine Überprüfung der Homogenität der Verteilung von α -Tocopherol in den einzelnen Portionen war nicht erforderlich. Aufgrund des Emulgierprozesses in der Herstellung der

Prüfprodukte (vgl. nachfolgende Kapitel) liegt das lipidlösliche α -Tocopherol gleichmäßig in der dispersen Ölphase vor, welche bei lagerstabilen Produkten ebenfalls einheitlich in der kontinuierlichen wässrigen Phase verteilt ist. Bei dem eingesetzten α -Tocopherol handelt es sich um Covitol® F-1370 (*Spezifikation Covitol® F-1370* siehe Anhang), ein natürliches α -Tocopherol-Konzentrat in Form eines klaren, viskosen, bernsteinfarbenen Öls, das aus Pflanzenölen gewonnen und von Cognis Deutschland GmbH & Co. KG (Düsseldorf, Deutschland) hergestellt wird. Ein Gramm Covitol® F-1370 enthält 919 mg RRR- α -Tocopherol [Cognis 2007].

Das in den Prüfprodukten verwendete Öl ist eine Mischung aus handelsüblichen Rapsöl und Miglyol® 812 N zu gleichen Teilen. Miglyol® 812 N ist ein Modellöl, das aus mittelkettigen Fettsäuren zusammengesetzt ist und von Sasol Germany GmbH (Witten, Deutschland) hergestellt wird. Es enthält 50-65% Caprylsäure und 30-45% Caprinsäure (*Spezifikation Miglyol® 812 N* siehe Anlage) [Sasol 2004].

4.1.6.1 Frischkäse

Rezeptur Frischkäse (30% Fett i.Tr.)

Käsebruch (22,3% TS)	60,60%
Wasser	32,14%
Rapsöl /Miglyol 812 N	6,25%
Natriumcaseinat (Emulgator)	0,47%
Salz (Natriumchlorid)	0,31%
Xanthan (Stabilisator)	0,24%

Herstellungsverfahren Frischkäse

Die Herstellung des in den Studienphasen I, II und III eingesetzten Frischkäses erfolgte in Anlehnung an das konventionelle Verfahren zur Herstellung von Quark per Säurefällung (vgl. Kapitel 3.3.1). Dabei handelt es sich um ein mehrstufiges Verfahren.

Im ersten Schritt wurde zunächst der Käsebruch gewonnen. Hierzu wurde handelsüblicher Quark zentrifugiert, so dass sich der Käsebruch und die Molke trennten. Anschließend wurde die Trockensubstanz (TS) des Bruchs im Trockenschrank bestimmt. Bei bekanntem Trockensubstanzgehalt des Bruchs konnte, durch Zugabe von Molke, der für den Frischkäse benötigte Trockensubstanzgehalt von 22,3% eingestellt werden.

Im zweiten Schritt wurde eine Fettemulsion hergestellt, die aus dem Emulgator (Natriumcaseinat), Öl und α -Tocopherol bestand. Dazu musste zunächst das Natriumcaseinat mit Wasser für 2 h unter Rühren bei Raumtemperatur quellen. Das α -Tocopherol

wurde mit dem Öl vermischt, auf 60 °C temperiert und bei 400 U/min innerhalb von 30 sec zum ebenfalls auf 60 °C temperierten Natriumcaseinat gegeben. Diese Voremulsion wurde für weitere 2 min bei 6270 U/min emulgiert, anschließend das Salz dazugegeben und bei 400 U/min weiter emulgiert. Im letzten Schritt wurde der Käsebruch zusammen mit der Emulsion und dem vorgequollenen Stabilisator (Xanthan) vermischt. Der Einsatz von Xanthan diente der Stabilisierung und damit der Verbesserung der sensorischen Struktur. Abbildung 9 verdeutlicht das Herstellungsverfahren des Frischkäses.

In der Studienphase III wurden verschiedene Varianten des Frischkäses untersucht, die sich in der Tröpfchengröße der in der Emulsion verteilten Fetttröpfchen unterschieden (vgl. Kapitel 4.4). Die entscheidende Stellgröße für die Tröpfchengröße ist dabei die Drehzahl des Emulgiergeräts. Zur Gewinnung einer Emulsion mit erheblich kleineren Fetttröpfchen wurden die Zutaten voremulgiert und anschließend in einen Homogenisator (Labo APV 200 serial) bei 130 bar gegeben. Zur Herstellung einer Emulsion mit deutlich größeren Fettpartikeln wurden diese bei 2100 U/min emulgiert.

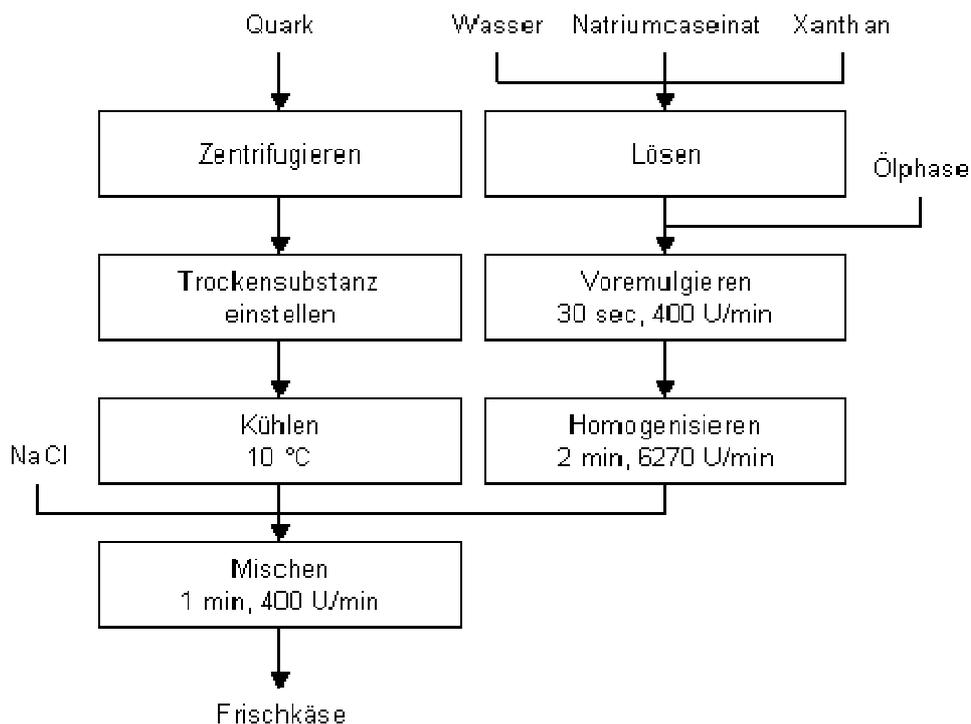


Abbildung 9: Ablaufschema Herstellungsverfahren Frischkäse

4.1.6.2 Mayonnaise

Rezeptur Mayonnaise (49,8% Fett)

Rapsöl /Miglyol 812 N	49,80%
Wasser	37,65%
pasteurisiertes Eigelb (Emulgator)	4,48%
modifizierte Stärke (E1422)	2,59%
Saccharose	2,49%
Salz (Natriumchlorid)	1,49%
Haushaltssessig	1,49%

Herstellungsverfahren Mayonnaise

Die Herstellung der in den Studienphase I und II verabreichten Mayonnaise erfolgte über ein zweistufiges Verfahren. Dabei wurde zunächst die Stärke zusammen mit Saccharose, Salz und Essig in der Wasserphase bei $>95\text{ °C}$ bei 400 U/min für 1 min verkleistert. Anschließend wurde die Stärkesuspension im Eisbad auf $<35\text{ °C}$ abgekühlt. Die eingesetzte Stärke war native Maisstärke, die die Mayonnaise festigt, indem das Wasser immobilisiert wird. Der Einsatz von Stärke war notwendig, da mit dem geringen Fettgehalt von 50% eine ausreichende Stabilisierung über die Fettemulsion nicht gewährleistet werden konnte. Im zweiten Herstellungsschritt wurden das Eigelb und das mit α -Tocopherol vermischte Öl dispergiert. Diese Dispersion wurde anschließend langsam für 1,5 min bei 400 U zu der Stärkesuspension gegeben. Abbildung 10 (nachfolgende Seite) zeigt das Herstellungsverfahren der Mayonnaise.

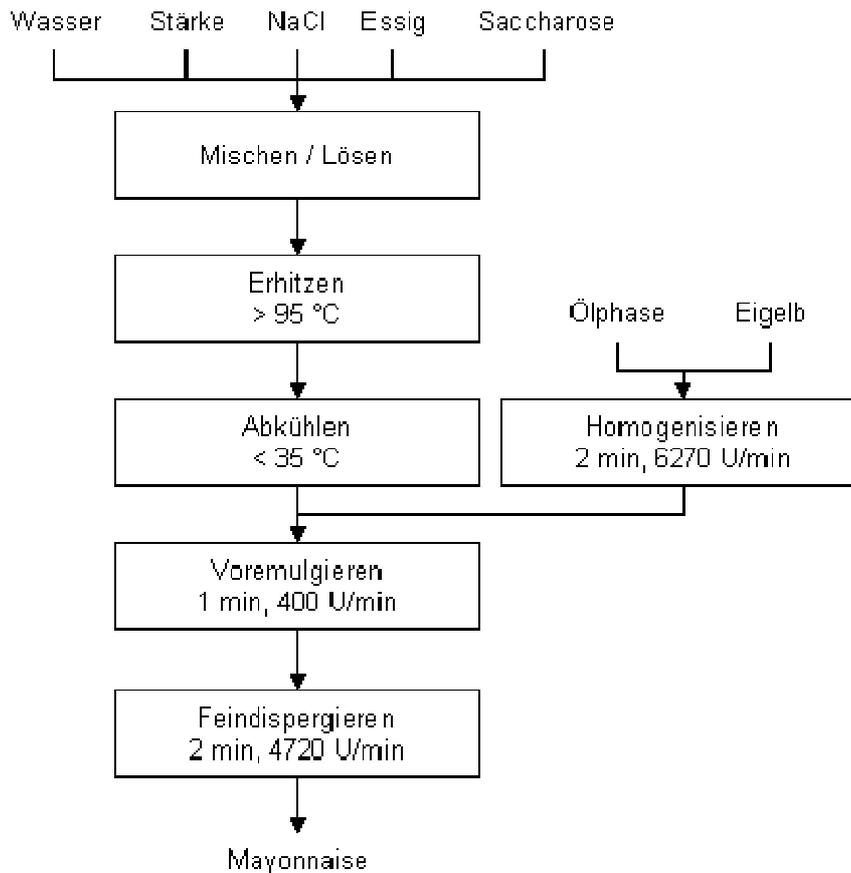


Abbildung 10: Ablaufschema Herstellungsverfahren Mayonnaise

4.1.6.3 Pudding

Rezeptur Schokopudding (6,33% Fett)

Wasser	73,85%
Magermilchpulver (Emulgator)	6,50%
Rapsöl /Miglyol 812 N	6,33%
Saccharose	7,22%
modifizierte Stärke (E1422)	4,44%
Kakaopulver	1,66%

Herstellungsverfahren Schokopudding

Der Schokopudding wurde nur in Studienphase I eingesetzt und ebenfalls in einem zweistufigen Verfahren hergestellt. Zunächst wurde das Magermilchpulver für 2 h unter Rühren in Wasser gelöst und anschließend auf 60 °C erhitzt. Diese Mischung wurde in

0,5 min bei 60 °C bei 400 U/min mit dem Öl voremulgiert und dann bei 4720 U/min für 2 min emulgiert. Nach Zugabe von Zucker wurde die Emulsion noch eine weitere Minute weitergerührt. Das eingesetzte Magermilchpulver wurde bei der Herstellung unter geringem Hitzeeintrag getrocknet, um den Anteil an denaturierten Proteinen im Magermilchpulver zu verringern. Die Proteine dienen im Schokopudding als Emulgatoren. Im zweiten Schritt wurde die Stärke zusammen mit dem Kakaopulver in kaltem Wasser dispergiert und bei >95 °C unter Rühren für 8 min verkleistert. Abschließend wurde die Emulsion zu der Stärkesuspension gegeben und bei >95 °C für 1 min vermischt. Der fertige Schokopudding wurde im Eisbad abgekühlt, um die Emulsion zu erhalten. Abbildung 11 stellt das Herstellungsverfahren des Schokopuddings dar.

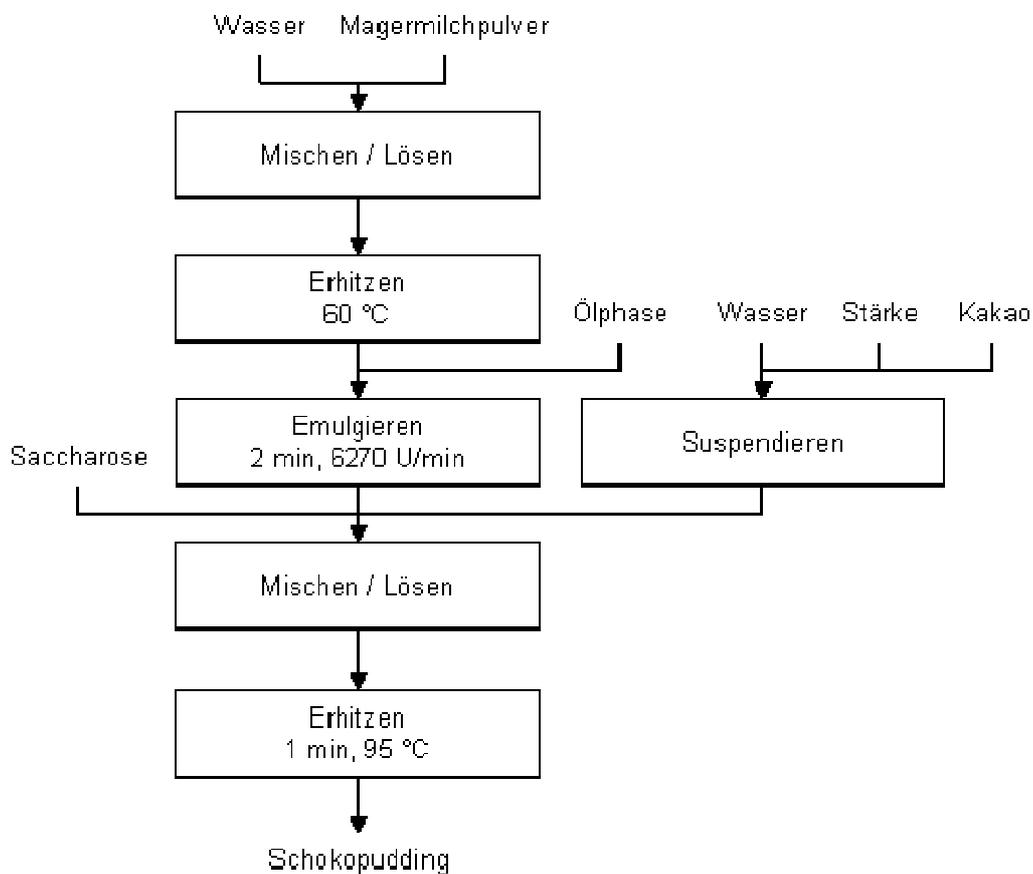


Abbildung 11: Ablaufschema Herstellungsverfahren Schokopudding

4.1.6.4 Emulsionen

In der Studienphase IV wurden die Lipidemulsionen aus der Frischkäseherstellung in Hartgelatine kapseln abgefüllt verabreicht (vgl. Kapitel 4.5). Die Herstellung dieser Emulsionen erfolgte analog zu dem ersten Herstellungsschritt des Frischkäses (vgl.

Kapitel 4.1.6.1). Es wurden vier verschiedene Typen von Emulsion eingesetzt, eine Emulsion mit einem natürlichen pH-Wert von 6,5 und eine Emulsion eingestellt auf den pH-Wert von 4,5 des Frischkäses sowie diese Emulsionen jeweils in getrockneter Form. Die reine Lipidemulsion weist natürlicherweise einen pH-Wert von 6,5 auf. Die Einstellung des pH-Werts erfolgte durch Zugabe von 50%iger Zitronensäure. Bei den Emulsionen wurde der Wasseranteil reduziert, um ein geringeres Volumen zu erreichen. Daraus ergab sich ein Verhältnis von Wasser zu Öl von 40% zu 60%. Zur Stabilisierung der Emulsionen wurde diese anschließend mit Maltodextrin versetzt. Die getrockneten Emulsionen wurden in ein Vakuumgefrieretrockner (Lyovac GT 3, Leybold) gegeben. Dafür wurde die Emulsion zunächst in Stickstoff eingetropfelt und damit gefroren. Durch das Vakuum im Gefrieretrockner wird die Feuchtigkeit abgezogen bis der Druck konstant bleibt und damit nahezu alle Feuchtigkeit aus dem Produkt entzogen ist. Für 400 g Emulsion benötigt das Gerät ca. 48 h. Zur Kontrolle wurde anschließend der Feuchtigkeitsgehalt bestimmt.

Rezeptur Emulsion

Rapsöl /Miglyol 812 N	45,00%
Wasser	26,95%
Maltodextrin	25,00%
Natriumcaseinat (Emulgator)	2,03%
Xanthan (Stabilisator)	1,02%

4.1.7 Analytik der Prüfprodukte

Jedes der Prüflebensmittel wurde mit Hilfe analytischer Verfahren charakterisiert, was der Standardisierung der Qualität insbesondere hinsichtlich sensorischer Eigenschaften und Haltbarkeit diene. Die eingesetzten Verfahren sind die in Kapitel 3.4 beschriebenen. Bestimmte hierbei erfasste Parameter können Aufschluss über Unterschiede in der Bioverfügbarkeit der einzelnen Prüfprodukte geben.

4.1.7.1 Verteilungskoeffizient

Zur Charakterisierung des Ausmaßes, mit dem das α -Tocopherol in den Phasen des Prüflebensmittels löslich ist, wurde der Verteilungskoeffizient unter Modellbedingungen bestimmt. Dazu werden die wässrige und die mit 60 mg α -Tocopherol /100 g angeereicherte Ölphase des Lebensmittels zunächst getrennt voneinander hergestellt und anschließend durch Schütteln intensiv vermischt. Die wässrige Phase wird entsprechend der jeweils vorliegenden Milieubedingungen (Saccharosekonzentration, pH-Wert, Salz-

konzentration) eingestellt. Durch Zentrifugation der Mischung für 30 min bei 9500 U/min erfolgt die Trennung der Phasen. Abschließend wird die Konzentration von α -Tocopherol in der Öl- und Wasserphase analytisch mittels HPLC bestimmt. Mit Hilfe der damit erhaltenen Daten kann der Anteil des α -Tocopherols ermittelt werden, der aus der Öl- in die Wasserphase oder in die Zwischenräume übergegangen ist.

4.1.7.2 Partikelgrößenverteilung

Die Bestimmung der Tropfengrößenverteilung wurde mit dem Laserbeugungsspektrometer Malvern Mastersizer X durchgeführt, welches eine validierte Methode zur Analysierung von Milchprodukten ist [ten Grotenhuis et al. 2003]. Dabei wird zunächst zur Bestimmung des Nullwertes ein polares Medium (tetra-Natriumpyrophosphatlösung) in das Gerät gegeben. Anschließend wird die zu untersuchende Emulsion im Verhältnis 1:20 000 zu dem Medium gebracht. Unter Eingabe der Geometrie der zu untersuchenden Partikel, im vorliegenden Fall kugelförmig, bestimmt das Gerät selbstständig die prozentuale Verteilung definierter Partikelgrößen sowie die spezifische Grenzfläche (GF [m²/g]) der Fetttropfchen. Zur Charakterisierung der Partikelgrößenverteilung werden folgende Größen ermittelt:

- X_{10} 10% des Tropfenvolumens werden von Tropfen eingenommen, die kleiner sind als der angegebene Tropfendurchmesser [μm];
- X_{50} 50% des Tropfenvolumens werden von Tropfen eingenommen, die kleiner sind als der angegebene Tropfendurchmesser [μm];
- X_{90} 90% des Tropfenvolumens werden von Tropfen eingenommen, die kleiner sind als der angegebene Tropfendurchmesser [μm].

Darüber hinaus wird der Größenverteilungskoeffizient (δ) bestimmt, dabei ist δ definiert als:

$$\delta = \frac{X_{90} - X_{10}}{X_{50}}$$

Je kleiner der Wert von δ , desto enger liegen die Partikelgrößen beieinander. Üblicherweise werden bei einem Koeffizienten $\delta < 4$ die Partikel als monodispers angenommen, d.h. alle Partikel liegen innerhalb einer gewissen Größenordnung [Cheng et al. 2006].

4.1.7.3 Emulsionsstabilität

Die Emulsionsstabilität wurde über die Stabilität der Grenzfläche (S_{GF}) bestimmt. Dazu wird die nach sieben Tagen ermittelte spezifische Grenzfläche der dispergierten Ölphase (GF_7) ins Verhältnis zur spezifischen Grenzfläche der frisch erzeugten Emulsion (GF_0) gebracht. Die spezifische Grenzfläche wird angegeben als m^2/g . Reduziert sich die spezifische Grenzfläche nicht in Folge von Koaleszenzen, ist $S_{GF}=1$. Die spezifische Grenzfläche wurde jeweils mit Hilfe des Laserbeugungsspektrometers Malvern Mastersizer X (vgl. Kapitel 4.1.7.2) bestimmt.

4.1.7.4 Extrahierbarer Fettanteil

Zur Ermittlung der Menge Fett, die mittels eines unpolaren Lösungsmittels aus der dispersen Phase einer Emulsion gelöst werden kann, wurde die Bestimmung des extrahierbaren Fettanteils durchgeführt. Die Analyse erfolgte wie nachfolgend beschrieben in Anlehnung an die Methode nach Kielmeyer & Schuster [1986]. Dabei wurde jeweils eine Dreifachbestimmung durchgeführt und die Werte gemittelt.

Es werden 20 g der zu untersuchenden Probe mit 100 ml Petroleumbenzin in einen Erlenmeyerkolben gegeben und für 5 min bei 180 U/min gerüttelt. Dabei wird das freie Fett aus der Probe gespült. Über einen hydrophoben Filter wird das Petroleumbenzin in einen Rundkolben dekantiert. Dabei ist darauf zu achten, dass keine Probenanteile in den Filter gegossen werden. Nach dem Abgießen werden erneut 100 ml Petroleumbenzin zu der Probe im Erlenmeyerkolben gegeben und wieder für 5 min bei 180 U/min geschüttelt. Das Petroleumbenzin wird wiederum über den hydrophoben Filter dekantiert und schließlich der gesamte Inhalt des Erlenmeyerkolbens in den Filter gegeben. Der Erlenmeyerkolben wird mit weiteren 25 ml Petroleumbenzin gespült und der restliche Inhalt über den Filter in den Rundkolben gegeben. Der Inhalt des Rundkolbens wird bei 60 °C und 200 mbar im Rotationsverdampfer abrotiert. Dabei verdampft das Petroleumbenzin, wird über eine Vakuumpumpe abgezogen und kondensiert anschließend im Kondensator. Das freie Fett verbleibt im Rundkolben, dieser wird anschließend für 3 h bei 80 °C im Trockenschrank getrocknet, anschließend abgekühlt und ausgewogen. Nach Auswage des Gehalts an freiem Fett kann der prozentuale Gehalt in der Probe folgendermaßen berechnet werden:

$$\text{Freier – Fett – Gehalt}[\%] = \frac{\text{AuswaageFett}[g] \cdot 100 \cdot 100}{\text{Gesamtfettgehalt}[\%] \cdot \text{Einwaage}[g]}$$

4.1.7.5 Oberflächentopographie

Die Oberflächentopographie der Proben wurde mit einem Cryo-Raster-Elektronenmikroskop untersucht. Dazu werden Probenvolumina von 3 μl in unterkühltem flüssigem Stickstoff eingefroren, die Probe bei $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ gebrochen und das Wasser an der Probenoberfläche bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ durch Sublimation entfernt. Anschließend wird die Probe mit Gold besputtert und bei $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Elektronenmikroskop untersucht. Das Elektronenmikroskop generiert dreidimensionale Bilder von der Oberfläche. Bei der optischen Auswertung der Bilder kann die Struktur, die Konzentration und Form der Fetttropfen sowie die Verteilung der Fetttropfen in der kontinuierlichen Phase beschrieben werden.

4.1.7.6 Strukturcharakterisierung

Zur Darstellung der Verteilung von Inhaltsstoffen, im vorliegenden Fall Fett und Protein, wurde die Fluoreszenzmikroskopie (Confocale Laser Scanning Microscopy, CLSM) genutzt. Dafür werden zunächst je zwei Proben des Prüfprodukts mit einem von zwei Farbstoffen vermischt. Nil Rot wird genutzt, um die disperse Fettphase zu markieren, die im CLSM rot dargestellt wird. Fluorescein wird eingesetzt, um die Proteine zu dotieren, die im CLSM grün erscheinen. Eine definierte Menge der Probe wird auf einen Objektträger gegeben und in das CLSM gegeben. Hier wurde das Gerät von Nikon Eclipse E600 verwendet. Auf die Probe treffen zwei Laserstrahlen mit unterschiedlichen Wellenlängen (554 nm bzw. 492 nm), die je nach Beschaffenheit der Partikel mit einer bestimmten Wellenlänge emittieren (606 nm bzw. 520 nm) und damit auf den Bildern in rot bzw. grün erscheinen. Die Auswertung der Bilder erfolgt rein optisch, so dass die ungefähre prozentuale Verteilung von Fett und Protein in der Probe beschrieben werden kann.

4.1.7.7 Rheologische Eigenschaften

Die rheologischen Eigenschaften wurden mittels des Fließ- und des Oszillationsversuchs bestimmt. Hier wurde der Rheometer AR 2000 mit einem Kegelplattenmesssystem eingesetzt. Der **Fließversuch** wurde in einem Scheerbereich von $0,1\text{-}500\text{ s}^{-1}$ bei $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durchgeführt. Dabei fährt die Kegelplatte innerhalb von 5 min von $0,1\text{ s}^{-1}$ auf 500 s^{-1} hoch. Das Gerät generiert automatisch die Fließ- bzw. Viskositätsfunktion. Aus dieser Funktion kann das Viskositätsverhalten abgelesen werden. Der **Oszillationsversuch** wurde mit $50\text{ }\mu\text{Nm}$ bei einer Frequenz von $0,1\text{-}10\text{ Hz}$ bei $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ über 5 min durchgeführt. Die Oszillationsfunktion wird ebenfalls vom Gerät selbstständig erstellt. Mittels dieser Funktion kann die Festigkeit der inneren Strukturen der Stoffsysteme im unzerstörten Zustand beschrieben werden.

4.1.8 Statistische Verfahren

Die im Rahmen der Untersuchungen erhobenen Daten wurden in pseudonymisierter Form in eine Datei aufgenommen und auf einem Passwort-geschützten Computer gespeichert. Die Richtigkeit sämtlicher Dateneintragungen wurde durch eine doppelte Kontrolle gewährleistet. Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Datenanalyse-Programm SPSS für Windows® (Version 16.0).

Als Bewertungsgrundlage wurde eine **Irrtumswahrscheinlichkeit** von $p \leq 0,05$ festgelegt. Bei dieser konnte die Nullhypothese abgelehnt und die Alternativhypothese angenommen werden.

Die Daten wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf **Normalverteilung** geprüft. Da die überwiegende Mehrheit der Daten normalverteilt war, wurden als Lage- und Streuungsmaße das arithmetische Mittel \pm Standardabweichung (mean \pm SD), das Minimum (Min.) und Maximum (Max.) sowie die absoluten und relativen Häufigkeiten angegeben.

Zum statistischen **Vergleich zweier Prüfprodukte** wurde bei normalverteilten Daten der T-Test für zwei unabhängige Stichproben durchgeführt, während bei nicht normalverteilten Daten der U-Test nach Mann und Whitney genutzt wurde.

Zur **Überprüfung** von Unterschieden zwischen **mehr als zwei Prüfprodukten** wurde der H-Test nach Kruskal und Wallis durchgeführt.

Bei den eingesetzten statistischen Tests für normalverteilte Daten werden die Stichproben hinsichtlich ihrer Mittelwerte verglichen. Die Tests für nicht normalverteilte Daten basieren auf einer gemeinsamen Rangreihe der Werte aller Stichproben.

4.2 Studienphase I

4.2.1 Studiendesign

Es wurden drei Kurzzeitkinetik-Untersuchungen über je 24 h im Cross-over-Design durchgeführt (20.09.2007-5.10.2007). Jeder Proband erhielt im Laufe der Untersuchungen jedes der drei mit RRR- α -Tocopherol angereicherten Prüfprodukte im Abstand von einer Woche. Die Aufnahme der Prüfprodukte erfolgte im Anschluss an eine Nüchternblutentnahme im Rahmen einer auf Fettmenge und Fettzusammensetzung standardisierten Kost (*Zusammensetzung der Kost* siehe Anhang). 1 h sowie 3, 5, 7, 9, 12 und 24 h nach Verzehr der Produkte erfolgten weitere Blutentnahmen.

4.2.2 Prüfprodukte und Dosierung

Tabelle 11: Übersicht zu den in Studienphase I eingesetzten Prüfprodukten

Prüfprodukt	Portionsgröße [g]	Fett pro Portion [g]	RRR- α -Tocopherol pro Portion [mg]
Frischkäse	80	5	60
Mayonnaise	10	5	60
Schokoladenpudding	80	5	60

4.2.3 Erhobene Parameter

Zu den Blutentnahmezeitpunkten wurden jeweils die α -Tocopherol-, Gesamtcholesterol- und Triacylglycerid-Konzentrationen im Serum analysiert. Die Prüfprodukte wurden vorab technologisch analysiert und die folgenden Parameter erhoben: Verteilungskoeffizient, Partikelgrößenverteilung, Emulsionsstabilität, Extrahierbarer Fettanteil, Oberflächentopographie, Strukturcharakterisierung (Mayonnaise und Pudding) sowie rheologische Eigenschaften. Aufgrund des Caseinmicellennetzwerks des Frischkäses, durch das Fett und Protein klar getrennt sind, war eine Darstellung der Frischkäsestruktur mittels CLSM zur weiteren Charakterisierung nicht notwendig.

4.3 Studienphase II

4.3.1 Studiendesign

Diese Phase setzte sich aus einer Kurzzeitkinetik-Untersuchung über 24 h (24.01.2008 und 25.01.2008) sowie einer Langzeitkinetik-Untersuchung über 4 Wochen (25.01.2008-22.02.2008) zusammen. In der Langzeitkinetik wurden die Studienteilnehmer per Losverfahren in Gruppen aufgeteilt und erhielten über den gesamten Untersuchungszeitraum eins der Prüfprodukte. Somit handelte es sich bei diesen Untersuchungen um keine Cross-over-Studien, sondern um einen Parallelgruppenvergleich.

In der Kurzzeitkinetik-Untersuchung wurden die Prüfprodukte im Anschluss an eine Nüchternblutentnahme im Rahmen eines auf Fettmenge und Fettzusammensetzung standardisierten Frühstücks (*Zusammensetzung der Kost* siehe Anhang) verzehrt. 3 h sowie 6, 9, 12 und 24 h nach Verzehr der Produkte erfolgten weitere Blutentnahmen.

Während der Langzeitkinetik-Untersuchung verzehrten die Studienteilnehmer über vier Wochen täglich eine Portion des jeweiligen Prüfprodukts. In dem Untersuchungszeitraum wurden zu Beginn und jeweils nach einer Woche morgens eine Blutentnahme, insgesamt also fünf Blutentnahmen durchgeführt.

4.3.2 Prüfprodukte und Dosierung

Tabelle 12: Übersicht zu den in Studienphase II eingesetzten Prüfprodukten

Prüfprodukt	Portionsgröße [g]	Fett pro Portion [g]	RRR- α -Tocopherol pro Portion [mg]
Frischkäse	80	5	60
Mayonnaise	10	5	60

4.3.3 Erhobene Parameter

Bei jeder Blutentnahme wurden die α -Tocopherol-, Gesamt-, LDL- und HDL-Cholesterolsowie Triacylglycerid-Konzentrationen im Serum bestimmt. Die Prüfprodukte entsprachen denen der Studienphase I, daher wurden keine weiteren technologischen Analysen vorgenommen.

4.4 Studienphase III

4.4.1 Studiendesign

In dieser Studienphase wurden drei Kurzzeitkinetik-Untersuchungen mit je drei verschiedenen Prüfprodukten durchgeführt (22.10.2008-06.11.2008). Jedem Studienteilnehmer wurde zunächst eine Nüchternblutprobe entnommen und erhielt im Anschluss daran jeweils eins der zu untersuchenden Prüfprodukte im Rahmen eines standardisierten Frühstücks (*Zusammensetzung der Kost* siehe Anhang). 3 h sowie 4½, 6, 7½, 9, 12 und 24 h nach Verzehr des Prüfprodukts erfolgten weitere Blutentnahmen.

4.4.2 Prüfprodukte und Dosierung

In dieser Studienphase wurden drei Varianten des Frischkäses eingesetzt, die sich in der Tröpfchengröße der in der Emulsion verteilten Lipidtröpfchen unterschieden. Im Speziellen wird der Frischkäse nach der Standardrezeptur (vgl. Kapitel 4.1.6.1) definiert als „Frischkäse (normale Partikel)“, der Frischkäse mit deutlich kleineren Fetttröpfchen als

„Frischkäse (kleine Partikel)“ und der Frischkäse mit deutlich größeren Lipidtröpfchen als „Frischkäse (große Partikel)“. Das Prüfprodukt „Frischkäse (normale Partikel)“ entspricht dem in den Studienphasen I und II verwendeten Frischkäse.

Tabelle 13: Übersicht zu den in Studienphase III eingesetzten Prüfprodukten

Prüfprodukt	Portionsgröße [g]	Fett pro Portion [g]	RRR- α -Tocopherol pro Portion [mg]
Frischkäse (kleine Partikel)	80	5	60
Frischkäse (normale Partikel)	80	5	60
Frischkäse (große Partikel)	80	5	60

4.4.3 Erhobene Parameter

Bei jeder Blutprobe wurden die α -Tocopherol-, Gesamt-, LDL- und HDL-Cholesterolsowie Triacylglycerid-Konzentrationen im Serum analytisch bestimmt. Vorab wurden bei den Prüfprodukten die Partikelgrößenverteilung mit der spezifischen Grenzfläche, der extrahierbare Fettanteil und die Oberflächentopographie bestimmt.

4.5 Studienphase IV

4.5.1 Studiendesign

In dieser Studienphase wurde nicht das gesamte Lebensmittel mit α -Tocopherol angereichert sondern nur die Lipidemulsionen des Frischkäses aus den Studienphasen I und II, die jeweils in Hartgelatine kapseln abgefüllt waren (vgl. Kapitel 4.1.6.4). Die Kinetiken des in den Prüfprodukten enthaltenen α -Tocopherols wurden in vier Kurzzeit-Untersuchungen über jeweils 24 h bestimmt (23.10.2008-14.11.2008). Dafür verzehrten die Studienteilnehmer nach einer Nüchternblutentnahme das jeweilige Prüfprodukt im Rahmen einer lipidstandardisierten Kost (*Zusammensetzung der Kost* siehe Anhang). 3 h sowie 4½, 6, 7½, 9, 12 und 24 h nach Verzehr des Prüfprodukts wurden weitere Blutproben entnommen. Die Untersuchungen der anderen Prüfprodukte folgten jeweils im Abstand von einer Woche zu denselben Bedingungen.

4.5.2 Prüfprodukte und Dosierung

In dieser Studienphase wurden die reinen Lipidemulsionen aus der Frischkäseherstellung eingesetzt (vgl. Kapitel 4.1.6.4). Diese weist natürlicherweise einen pH-Wert von 6,5 auf, wohingegen der Frischkäse an sich einen pH-Wert von 4,5 hat. Insgesamt wurden vier Prüfprodukte in dieser Studienphase verwendet: die reine Lipidemulsion des Frischkäses, nachfolgend definiert als „Emulsion (pH 6,5)“; diese Emulsion eingestellt auf den pH-Wert des Frischkäses, definiert als „Emulsion (pH 4,5)“ sowie die gleichen Emulsionen in getrockneter Form, im Weiteren definiert als „Emulsion getrocknet (pH 6,5)“ und „Emulsion getrocknet (pH 4,5)“.

Tabelle 14: Übersicht zu den in Studienphase IV eingesetzten Prüfprodukten

Prüfprodukt	Portionsgröße [g]	Fett pro Portion [g]	RRR- α -Tocopherol pro Portion [mg]
Emulsion (pH 6,5)	12,8	5	60
Emulsion (pH 4,5)	12,8	5	60
Emulsion getrocknet (pH 6,5)	9,0	5	60
Emulsion getrocknet (pH 4,5)	9,0	5	60

4.5.3 Erhobene Parameter

Im Serum jeder Blutprobe wurden die α -Tocopherol- Gesamt-, LDL- und HDL-Cholesterolsowie Triacylglycerid-Konzentrationen analysiert. Bei jedem Prüfprodukt wurden die Partikelgrößenverteilung mit der spezifischen Grenzfläche, der extrahierbare Fettanteil und die Oberflächentopographie bestimmt.

5 Ergebnisse

5.1 Studienphase I

In Studienphase I wurden die Bioverfügbarkeiten von RRR- α -Tocopherol aus drei unterschiedlichen Lebensmittelmatrizes in Kurzzeitkinetiken über 24 h bestimmt und miteinander verglichen. Die eingesetzten Prüfprodukte waren Frischkäse, Mayonnaise und Schokoladenpudding.

5.1.1 Studienkollektiv

5.1.1.1 Anthropometrische Daten

Das Studienkollektiv umfasste fünf männliche Personen. Das Alter der Probanden lag im Mittel bei $30,0 \pm 4,5$ Jahre (Spanne: 24-35 Jahre). Die anthropometrischen Daten können der Tabelle 15 entnommen werden. Nach Einteilung der Studienteilnehmer zu den jeweiligen BMI-Klassen [WHO 2000] waren drei Personen normalgewichtig (BMI 20-24,9 kg/m²), zwei Personen übergewichtig (BMI 25-29,9 kg/m²) und keine Person untergewichtig (BMI <20 kg/m²) oder adipös (BMI \geq 30 kg/m²). Aufgrund des Cross-over-Designs der Studienphase, bestanden zwischen den Kollektiven keine signifikanten Unterschiede bezüglich der anthropometrischen Daten.

Tabelle 15: Anthropometrische Daten des Kollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	mean \pm SD	Min. – Max.
Körpergröße [m]	1,80 \pm 0,07	1,70 – 1,90
Körpergewicht [kg]	79,3 \pm 8,1	67,6 – 86,9
BMI [kg/m ²]	24,6 \pm 3,2	21,1 – 29,0

5.1.1.2 Ernährungsverhalten

Das Ernährungsverhalten in Bezug auf die durchschnittliche Aufnahme von Vitamin E der Studienteilnehmer wurde mittels des Screenings- sowie des Ernährungserhebungsfragebogens erfasst. Keiner der Teilnehmer verzehrte Nahrungsergänzungsmittel oder Lebensmittel, die mit Vitamin E angereichert waren. Von den fünf Studienteilnehmern nahmen einer gelegentlich und einer täglich mit Vitamin E angereicherte Getränke zu sich. Über den Ernährungserhebungsfragebogen (vgl. Kapitel 4.1.4.2) konnte die durch-

schnittlich aufgenommene Menge an Vitamin E abgeschätzt werden. Dabei lag die mittlere Zufuhr an Vitamin E bei zwei Studienteilnehmern über dem Grundbedarf von 6 mg Vitamin E pro Tag und bei drei über den Empfehlungen von mindestens 12 mg Vitamin E pro Tag.

5.1.1.3 Biochemische Parameter

Nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die mittleren Nüchternserumkonzentrationen der Studienteilnehmer der wichtigsten biochemischen Parameter.

Tabelle 16: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamtcholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	mean \pm SD	Min. – Max.	Referenzbereich
α -Tocopherol [μ mol/l]	24,6 \pm 2,5	21,1 – 30,6	11-37
α -Tocopherol/Triacylglyceride [mmol/l]	29,9 \pm 11,7	12,5 – 51,8	> 1,1
Gesamtcholesterol [mmol/l]	4,5 \pm 0,6	3,8 – 5,6	< 5,2
Triacylglyceride [mmol/l]	1,0 \pm 0,6	0,5 – 2,3	< 1,7

Die mittleren sowie minimalen und maximalen Nüchternserumkonzentrationen der Parameter α -Tocopherol, α -Tocopherol/Triacylglyceride, Gesamtcholesterol und Triacylglyceride lagen innerhalb der Referenzbereiche. Nur ein Studienteilnehmer wies an allen Untersuchungstagen Gesamtcholesterol-Konzentrationen (5,3; 5,4; 5,6 mmol/l) sowie an zwei Untersuchungstagen Triacylglycerid-Werte (2,0; 2,3 mmol/l) auf, die geringfügig über dem Grenzwert von 5,2 mmol/l für das Gesamtcholesterol und von 1,7 mmol/l für die Triacylglyceride lagen.

Der Vergleich der Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol/Triacylglyceride, Gesamtcholesterol und Triacylglyceriden ergab keine signifikanten Unterschiede ($p=0,482$) zwischen den einzelnen Untersuchungstagen. Die Nüchternserum- α -Tocopherol-Konzentrationen waren in dem Mayonnaisekollektiv (27,2 \pm 2,3 mmol/l) signifikant größer ($p=0,009$) als in dem Frischkäsekollektiv (23,1 \pm 1,3 mmol/l) und ebenso signifikant höher ($p=0,017$) als in dem Puddingkollektiv (23,5 \pm 1,5 mmol/l). Dies spiegelt sich im Gesamtgruppenvergleich wider, bei dem die Unterschiede ebenfalls signifikant ($p=0,013$) waren.

5.1.2 Biokinetische Parameter

Nachfolgende Tabelle zeigt die biokinetischen Parameter der drei Prüfprodukte im Vergleich.

Tabelle 17: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, mittlerer Rang) des Frischkäse-, Pudding- und Mayonnaisekollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	Pudding	p*
AUC ₀₋₂₄ (α-Tocopherol)	9,0	8,0	7,0	0,779
AUC ₀₋₂₄ (α-Tocopherol/TC)	10,0	6,2	7,8	0,403
AUC ₀₋₂₄ (α-Tocopherol/TC+TG)	11,2	5,8	7,0	0,134
c _{max}	9,1	8,4	6,5	0,635
t _{max}	7,7	4,1	12,2	0,010

* H-Test nach Kruskal und Wallis für unabhängige Stichproben (Frischkäse-, Mayonnaise-Puddingkollektiv)

Es konnten keine Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α-Tocopherol, gemessen als AUC₀₋₂₄, aus den Prüfprodukten festgestellt werden. Eine weitergehende Analyse (vgl. Tabellen 18-20) ergab eine signifikant größere (p=0,010) Bioverfügbarkeit von α-Tocopherol, gemessen als AUC₀₋₂₄ (α-Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride), aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise. Die maximalen Serumkonzentrationen von α-Tocopherol (c_{max}) unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Prüfprodukten. In der Zeit bis zum Erreichen von c_{max} (t_{max}) bestanden signifikante Unterschiede (p=0,010). Im Speziellen wurde die maximale Serumkonzentration nach Verzehr der Mayonnaise sowohl signifikant später (p=0,046) erreicht als nach der Aufnahme des Frischkäses als auch signifikant später (p<0,001) als nach dem Verzehr des Puddings.

Tabelle 18: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert ± SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	p*
AUC ₀₋₂₄ (α-Tocopherol) [μmol*h/l]	57,3 ± 43,2	55,2 ± 35,2	0,934
AUC ₀₋₂₄ (α-Tocopherol/TC) [μmol*h/l]	0,016 ± 0,004	0,011 ± 0,004	0,089
AUC ₀₋₂₄ (α-Tocopherol/TC+TG) [μmol*h/l]	0,011 ± 0,004	0,002 ± 0,005	0,010
c _{max} [μmol/l]	3,9 ± 2,0	3,9 ± 2,7	0,999
t _{max} [h]	5,4 ± 1,7	7,4 ± 0,9	0,046

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Mayonnaisekollektiv)

Tabelle 19: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Puddingkollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Frischkäse	Pudding	p*
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	57,3 \pm 43,2	39,4 \pm 35,7	0,496
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,016 \pm 0,004	0,012 \pm 0,009	0,425
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,011 \pm 0,004	0,003 \pm 0,01	0,136
c _{max} [$\mu\text{mol/l}$]	3,9 \pm 2,0	3,0 \pm 1,6	0,451
t _{max} [h]	5,4 \pm 1,7	3,8 \pm 1,1	0,111

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Puddingkollektiv)

Tabelle 20: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Mayonnaise- und Puddingkollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Mayonnaise	Pudding	p*
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	55,2 \pm 35,2	39,4 \pm 35,7	0,502
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,011 \pm 0,004	0,012 \pm 0,009	0,842
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,002 \pm 0,005	0,003 \pm 0,01	0,893
c _{max} [$\mu\text{mol/l}$]	3,9 \pm 2,7	3,0 \pm 1,6	0,548
t _{max} [h]	7,4 \pm 0,9	3,8 \pm 1,1	<0,001

* t-Test für unabhängige Stichproben (Mayonnaise- vs. Puddingkollektiv)

Auch der optische Vergleich der Verläufe der Serumkonzentrationen an α -Tocopherol (vgl. nachfolgende Abbildungen) spiegelte die Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten wider. Dabei kann eine mit Abstand geringere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Pudding gegenüber der aus der Mayonnaise und dem Frischkäse ausgemacht werden.

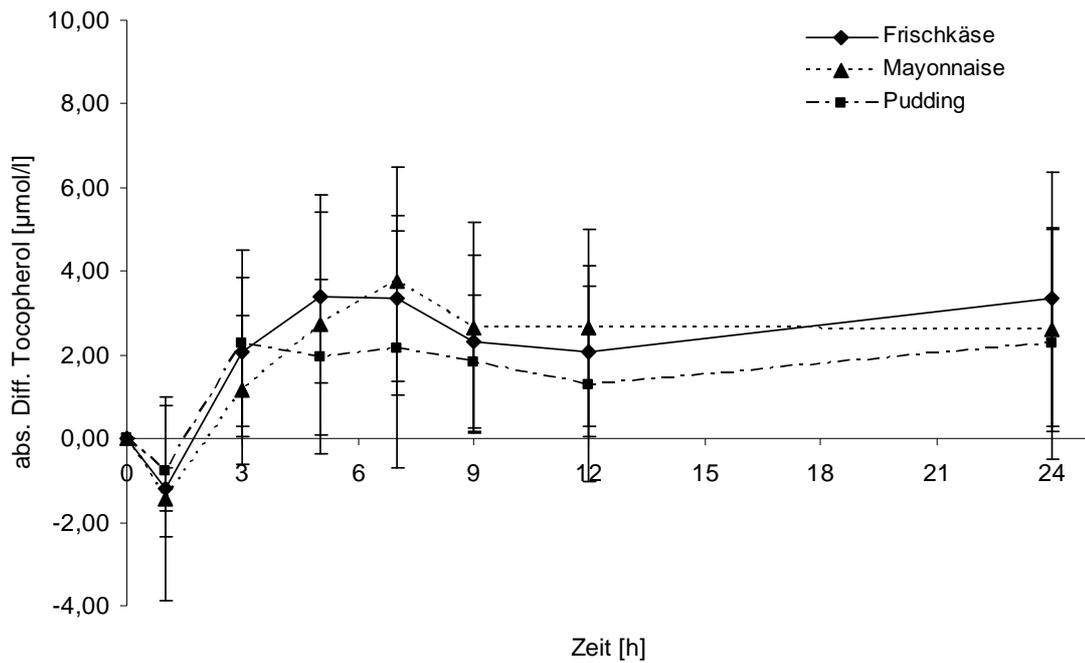


Abbildung 12: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Studienphase I, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

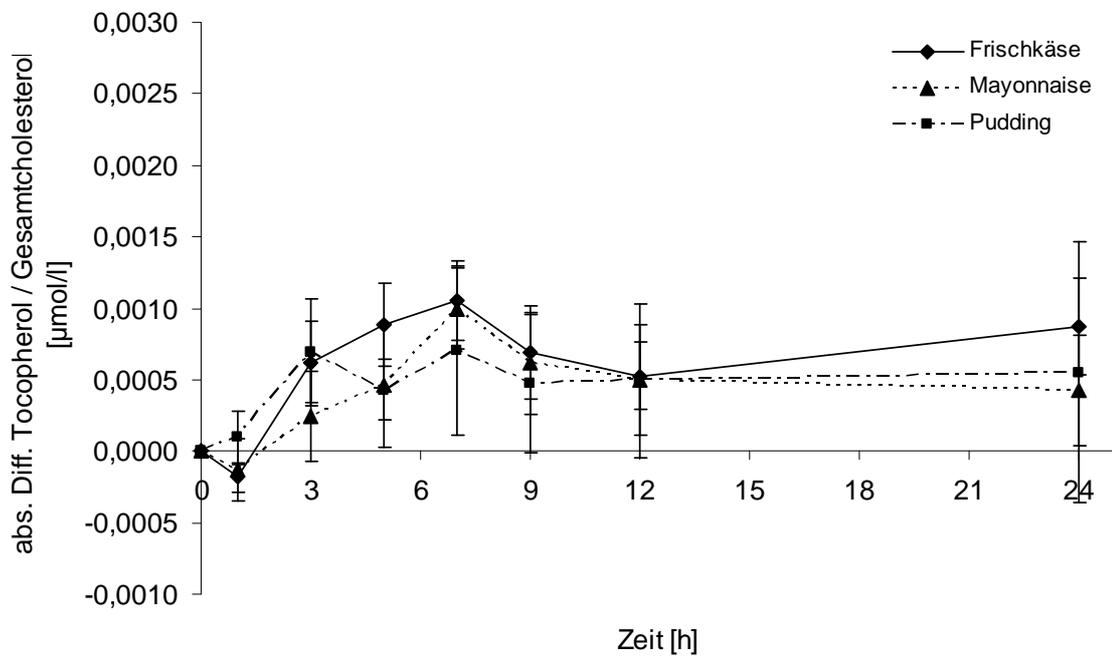


Abbildung 13: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Studienphase I, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

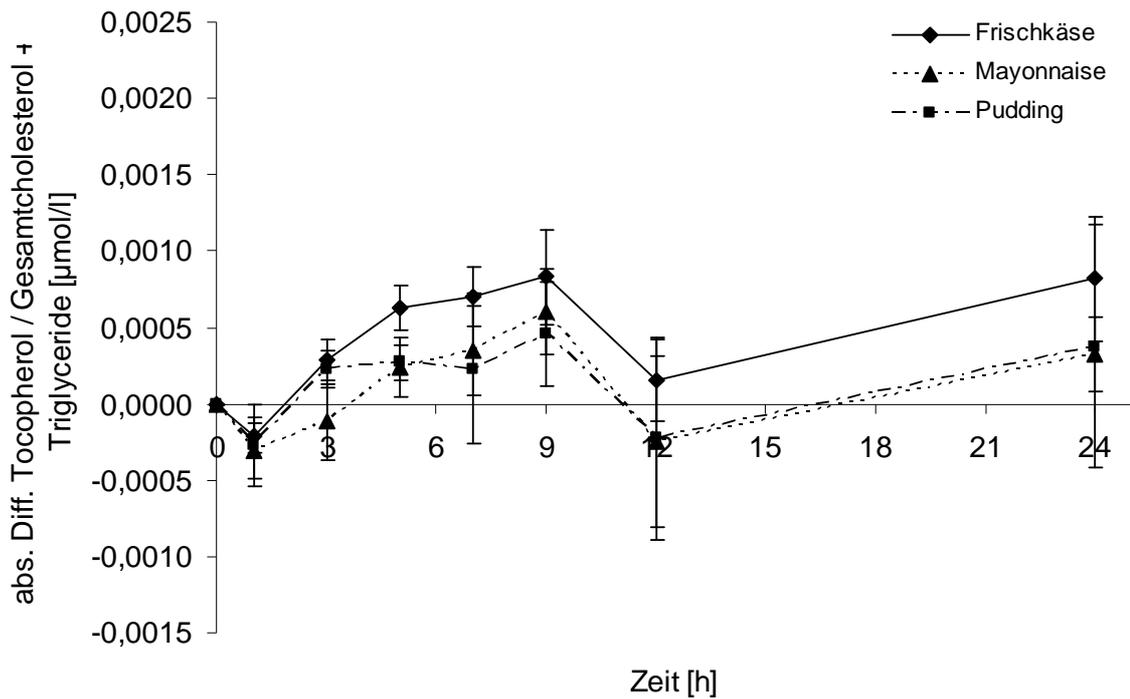


Abbildung 14: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Studienphase I, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

Zur weiteren Abschätzung des Ausmaßes der Absorption von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten dienten die prozentualen Veränderungen der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen. Hier bestanden, wie die Tabellen im Anhang zeigen, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Prüfprodukten. Bei weiterführender Analyse war das Ausmaß der Absorption von α -Tocopherol, bestimmt als prozentuale Veränderung der α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglycerid-Konzentrationen, nach dem Verzehr des Frischkäses signifikant größer ($p=0,040$) als nach dem Verzehr des Puddings.

Der Vollständigkeit halber finden sich die Serumkonzentrationen an α -Tocopherol zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten in den Tabellen im Anhang.

5.1.3 Technologische Parameter

5.1.3.1 Verteilungskoeffizient

Der Verteilungskoeffizient zeigte, dass in allen drei Prüfprodukten nur ein minimaler Anteil des α -Tocopherols ($<0,1$ mg/100 g) in die Wasserphase übergegangen war. Die Konzentration in der Ölphase war dagegen in allen Prüfprodukten vermindert. Die Differenz zu

den in 100 g Ölphase eingebrachten 60 mg α -Tocopherol musste somit in der Grenzschicht zwischen der Öl- und Wasserphase lokalisiert sein. Beim Pudding fand sich dabei am meisten (10,3 mg/100 g), bei der Mayonnaise etwas weniger (9,4 mg/100 g) und beim Frischkäse am wenigsten (7,2 mg/100 g) α -Tocopherol in der Grenzfläche.

Tabelle 21: Verteilungskoeffizienten von α -Tocopherol der Prüfprodukte der Studienphase I

Prüfprodukt	Konz. α -Tocopherol in der Wasserphase	Konz. α -Tocopherol in der Ölphase	Differenz zu 60 mg α -Tocopherol
Frischkäse	<0,1 mg/100 g	52,7 mg/100 g	7,2 mg/100 g
Mayonnaise	<0,1 mg/100 g	50,4 mg/100 g	9,4 mg/100 g
Pudding	<0,1 mg/100 g	49,6 mg/100 g	10,3 mg/100 g

5.1.3.2 Partikelgrößenverteilung

Die Partikelgrößenverteilung zeigte, dass der disperse Zustand der Emulsionen des Frischkäses und der Mayonnaise etwa gleich waren und somit eine ähnliche spezifische Grenzfläche aufwiesen, während sich im Pudding deutlich kleinere Tröpfchen fanden, was zu einer größeren spezifischen Grenzfläche führte. Der Größenverteilungskoeffizient war bei allen drei Prüfprodukten etwa gleich groß und lag jeweils unter vier. Damit konnten alle Emulsionen als monodispers eingestuft werden. Außerdem wiesen die Partikelgrößen in allen Prüfprodukten etwa das gleiche relativ schmale Spektrum auf (vgl. Tabelle 22).

Tabelle 22: Partikelgrößenverteilung der Prüfprodukte der Studienphase I mit X_{10} , X_{50} und X_{90} , dem Größenverteilungskoeffizienten (δ) sowie der spezifischen Grenzfläche (GF_0)

Prüfprodukt	X_{10} [μm]	X_{50} [μm]	X_{90} [μm]	δ	GF_0 [m^2/g]
Frischkäse	1,08	5,89	13,53	2,11	2,21
Mayonnaise	1,42	4,32	11,58	2,35	2,14
Pudding	0,95	2,94	7,73	2,31	3,17

5.1.3.3 Emulsionsstabilität

Alle Prüfprodukte hatten mit $S_{GF}=1$ eine optimale Stabilität innerhalb der getesteten sieben Tage.

Tabelle 23: Emulsionsstabilität (S_{GF}) der Prüfprodukte der Studienphase I mit der spezifischen Grenzfläche nach 0 (GF_0) und 7 (GF_7) Tagen

Prüfprodukt	GF_0 [m^2/g]	GF_7 [m^2/g]	S_{GF}
Frischkäse	2,21	2,21	1
Mayonnaise	2,14	2,15	1
Pudding	3,17	3,17	1

5.1.3.4 Extrahierbarer Fettanteil

Der extrahierbare Fettanteil unterschied sich zwischen den Prüfprodukten insofern, dass die Mayonnaise den größten EFA aufwies, während der Pudding einen kleineren EFA und der Frischkäse einen noch geringeren EFA aufzeigte.

Tabelle 24: Extrahierbarer Fettanteil (EFA) der Prüfprodukte der Studienphase I als Mittelwert \pm Standardabweichung

Prüfprodukt	EFA [g/100 g Fett]
Frischkäse	0,58 \pm 0,03
Mayonnaise	9,50 \pm 0,21
Pudding	1,04 \pm 0,13

5.1.3.5 Oberflächentopographie

Anhand der Oberflächentopographie war zu erkennen, dass sich die Fettphase des **Frischkäses** innerhalb der Caseinmicellen befand. Die Fetttropfen waren gleichmäßig in der Matrix verteilt und zeigten eine teilweise glatte, teilweise unebene Grenzfläche. Die unebene Grenzfläche war im Frischkäse durch eine zusätzliche Assoziation von Caseinat an die Fetttropfen bedingt.

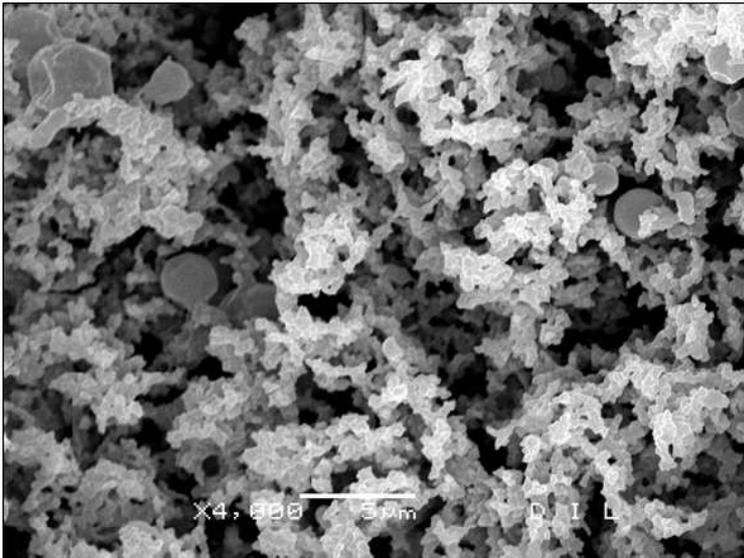


Abbildung 15: Struktur des Frischkäses, Ausschnitt 1, Balken entspricht 5 μm

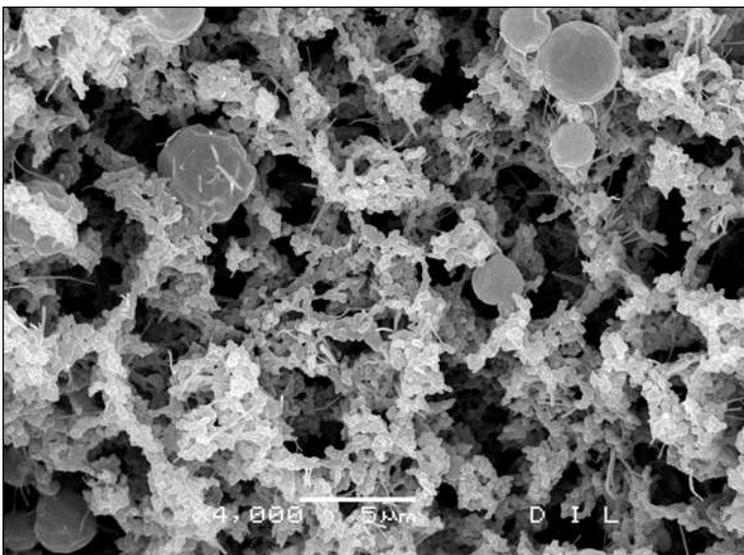


Abbildung 16: Struktur des Frischkäses, Ausschnitt 2, Balken entspricht 5 μm

Die Struktur der **Mayonnaise** war durch eine hohe Konzentration der Öltropfen in der Matrix gekennzeichnet. Die Fetttropfen waren annähernd kugelförmig und wiesen eine glatte Oberfläche auf.

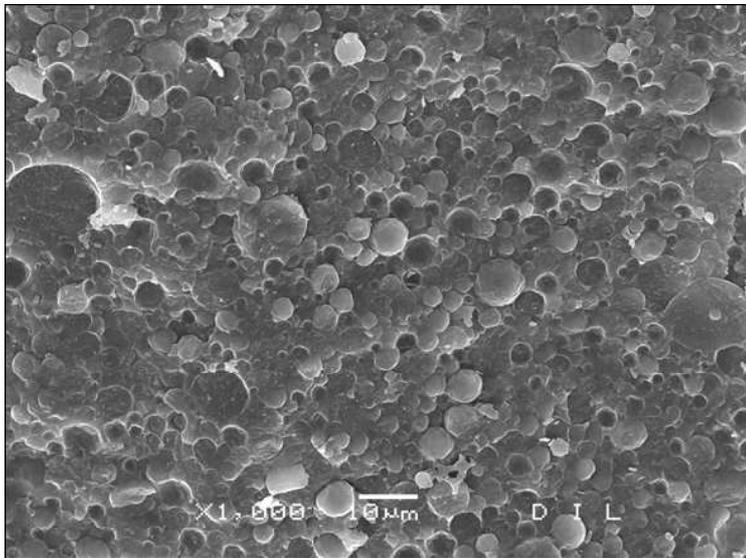


Abbildung 17: Struktur der Mayonnaise, Ausschnitt 1, Balken entspricht 10 μm

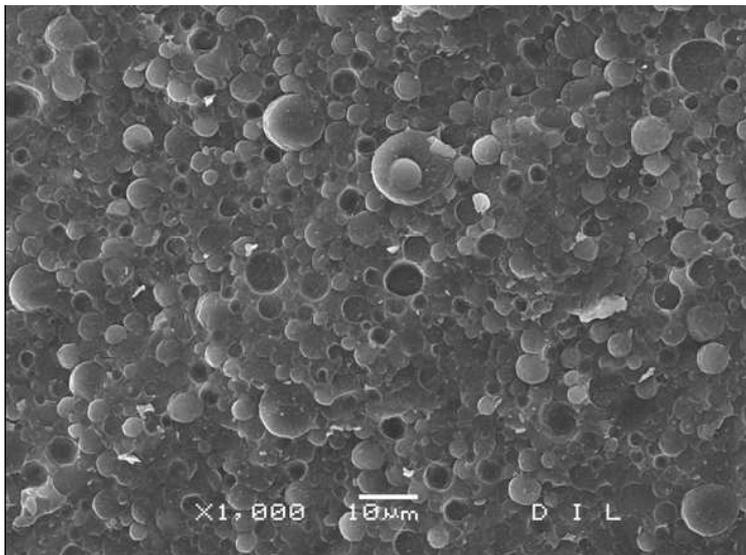


Abbildung 18: Struktur der Mayonnaise, Ausschnitt 2, Balken entspricht 10 μm

Die Konzentration von Fetttropfen war im **Pudding** relativ gering. Die Tropfen selbst waren ungleichmäßig verteilt und überwiegend zu Clustern zusammengelagert, jedoch ohne direkten Kontakt zueinander. Die Oberfläche der Fetttropfen war glatt und homogen.

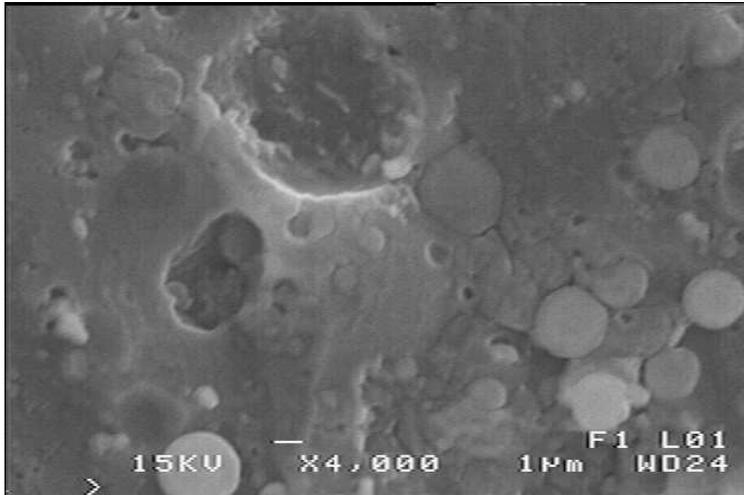


Abbildung 19: Struktur des Puddings, Ausschnitt 1, Balken entspricht 1 µm

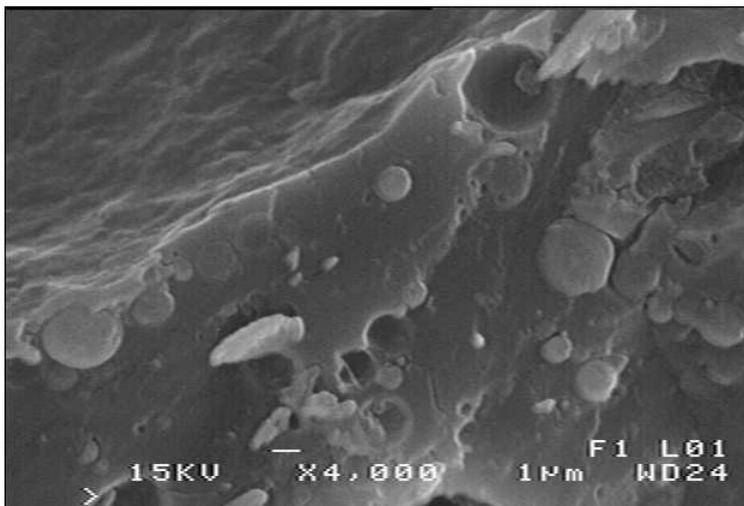


Abbildung 20: Struktur des Puddings, Ausschnitt 2, Balken entspricht 1 µm

5.1.3.6 Strukturcharakterisierung

Die Auswertung der Bilder des CLSM ergab eine Inkompatibilität von Protein und Stärke (erscheint dunkel) in der wässrigen Phase der **Mayonnaise**. Die Fetttropfen waren deutlich vom Protein abgegrenzt, welches die Fetttropfen umhüllte.

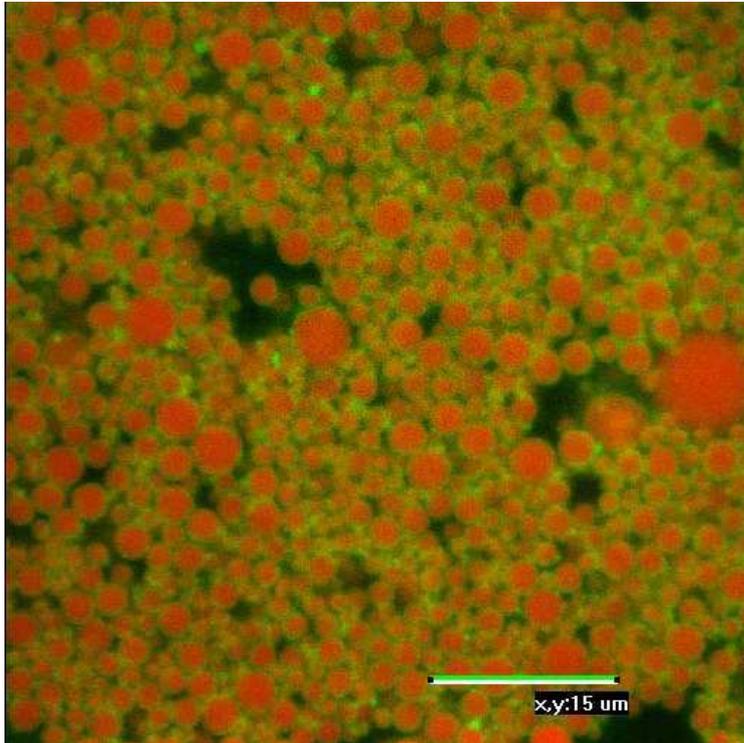


Abbildung 21: Verteilung von Fett (rot) und Protein (grün) in der Mayonnaise

Die Fetttropfen des **Puddings** befanden sich im Protein verteilt und waren somit mit diesem kompatibel. Die dunklen Flecken wurden durch das in dem Prüfprodukt enthaltene Kakaopulver verursacht.

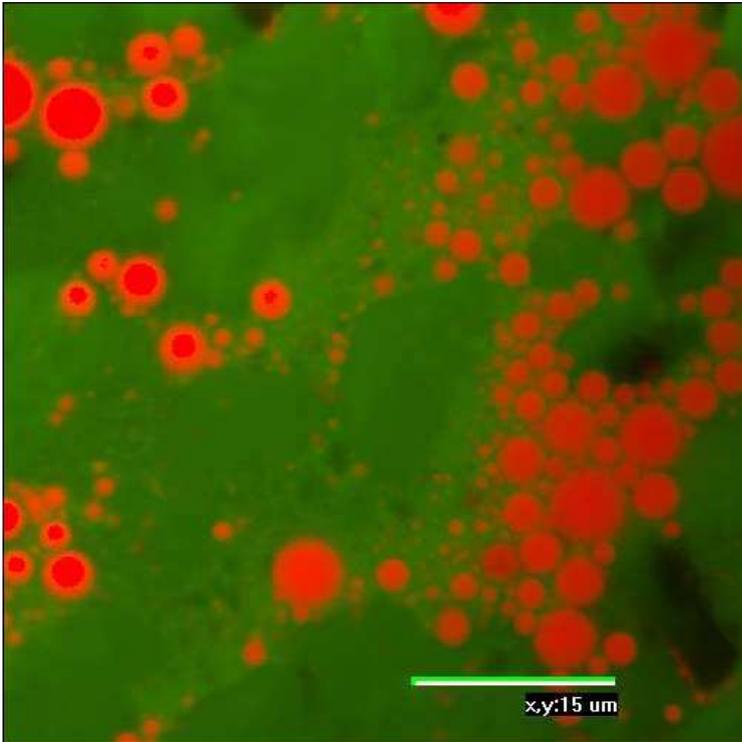


Abbildung 22: Verteilung von Fett (rot) und Protein (grün) im Pudding

5.1.3.7 Rheologische Eigenschaften

Bei allen drei Prüfprodukten verringerte sich die Viskosität mit zunehmender Scherbelastung. Die Produkte wiesen somit strukturviskoses Verhalten auf. Die Viskosität der Mayonnaise war über den gesamten Scherbereich am niedrigsten. Bei geringem Schergefälle war das Verhalten von Frischkäse und Pudding identisch, während bei dem Frischkäse bei höheren Schergefällen eine höhere effektive Viskosität als bei dem Pudding feststellbar war.

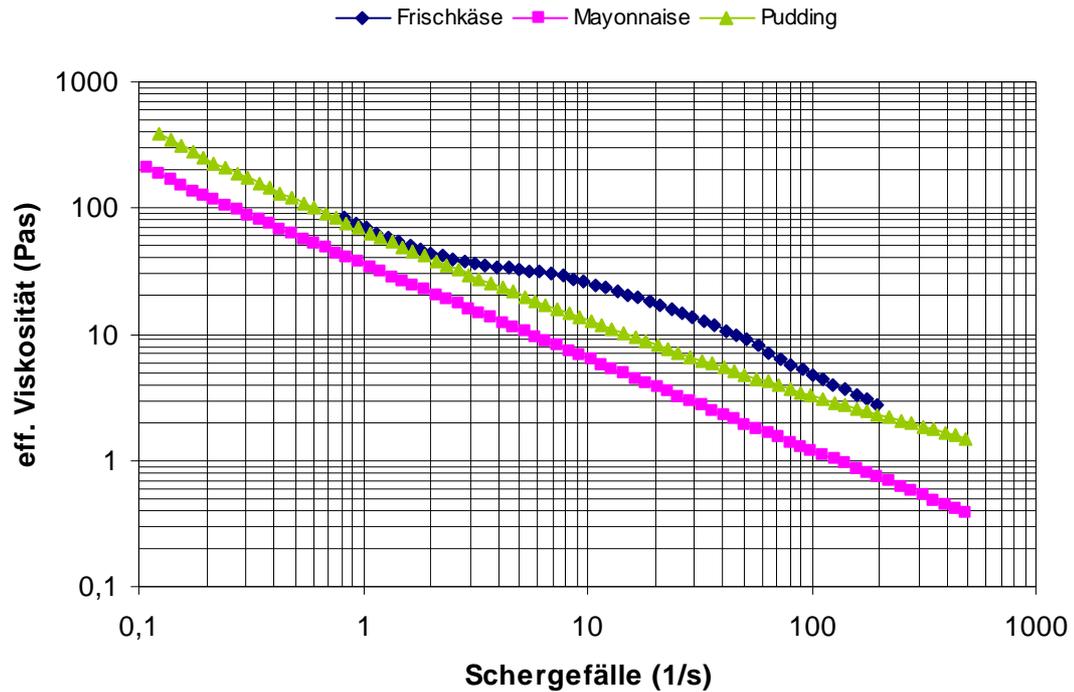


Abbildung 23: Viskositätsfunktion der Prüflebensmittel

Mayonnaise und Pudding wiesen eine annähernd identische Festigkeit der inneren Strukturen auf, während beim Frischkäse eine zehnfach höhere Festigkeit zu verzeichnen war.

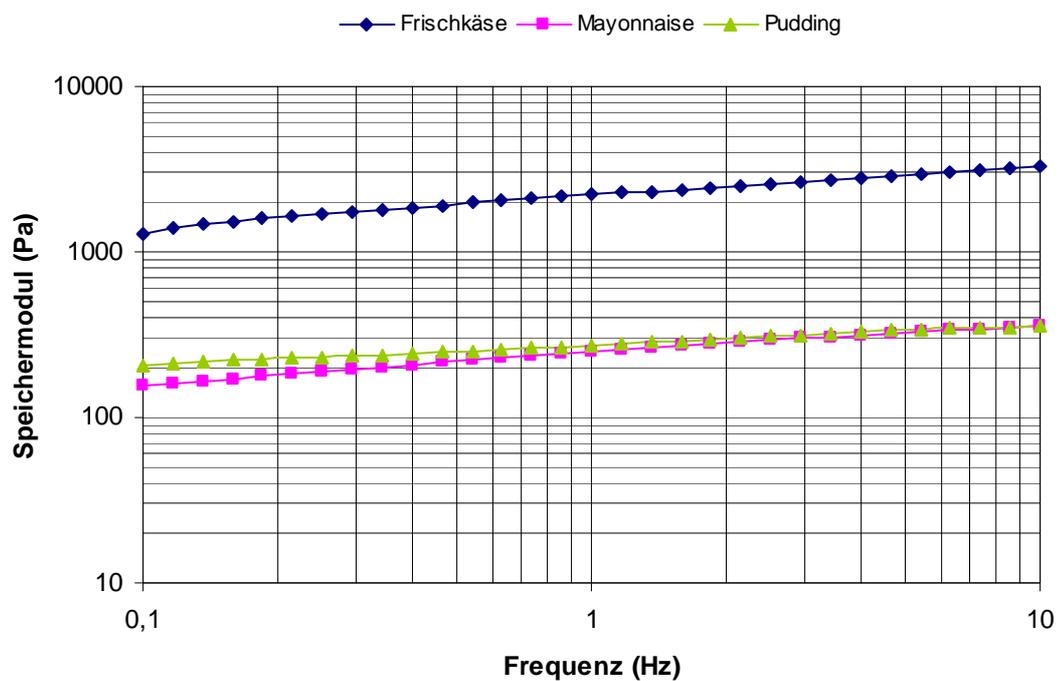


Abbildung 24: Oszillationsfunktion der Prüflebensmittel

5.2 Studienphase II

In dieser Studienphase II wurden sowohl eine Kurzzeitkinetik-Studie über 24 h als auch eine Langzeitkinetik-Untersuchung über vier Wochen durchgeführt. Dabei wurden jeweils die Bioverfügbarkeiten von RRR- α -Tocopherol aus Frischkäse und Mayonnaise bestimmt und miteinander verglichen.

5.2.1 Kurzzeitkinetik

5.2.1.1 Studienkollektiv

5.2.1.1.1 Anthropometrische Daten

Das Studienkollektiv der Kurzzeitkinetik in der zweiten Studienphase umfasste zehn männliche Personen, die geschlechteradjustiert randomisiert in zwei Gruppen aufgeteilt wurden. Die Teilnehmer des Frischkäsekollektivs waren durchschnittlich $32,0 \pm 2,1$ Jahre (Spanne: 29-34 Jahre) alt, die des Mayonnaisekollektivs $28,8 \pm 4,3$ Jahre (Spanne: 24-33 Jahre). Die anthropometrischen Daten können der Tabelle 25 entnommen werden. Zwei Teilnehmer des Frischkäsekollektivs waren normalgewichtig und drei Personen übergewichtig. In dem Kollektiv, das Mayonnaise erhalten hatte, waren vier Teilnehmer normalgewichtig und zwei übergewichtig. Die Subkollektive unterschieden sich nicht signifikant in Bezug auf die Geschlechterverteilung, das Alter ($p=0,172$), die Körpergröße ($p=0,153$), das Körpergewicht ($p=0,784$) und den BMI ($p=0,350$).

Tabelle 25: Anthropometrische Daten der Subkollektive der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, n=5

Parameter	Frischkäse (n=5)		Mayonnaise (n=5)	
	mean \pm SD	Min. – Max.	mean \pm SD	Min. – Max.
Körpergröße [m]	$1,78 \pm 0,05$	1,70 – 1,85	$1,83 \pm 0,06$	1,78 – 1,90
Körpergewicht [kg]	$81,7 \pm 13,2$	64,8 – 100,2	$79,5 \pm 10,8$	65,8 – 94,0
BMI [kg/m ²]	$25,9 \pm 3,7$	20,9 – 29,3	$23,8 \pm 3,1$	20,7 – 28,9

5.2.1.1.2 Ernährungsverhalten

Das Ernährungsverhalten der Studienteilnehmer in Bezug auf die Aufnahme von Vitamin E war relativ homogen. Keiner der Teilnehmer verzehrte Nahrungsergänzungsmittel mit Vitamin E und zwei Personen gelegentlich mit Vitamin E angereicherte

Lebensmittel. Der überwiegende Teil der Studienteilnehmer (n=6) nahm gelegentlich mit Vitamin E angereicherte Getränke zu sich während vier Teilnehmer nie solche Getränke aufnahm. Einer der Studienteilnehmer wies eine niedrige Zufuhr an Vitamin E (<6 mg Vitamin E pro Tag), fünf eine mittlere Zufuhr (über dem Grundbedarf) und vier Teilnehmer eine hohe Zufuhr von mindestens 12 mg Vitamin E pro Tag.

5.2.1.1.3 Biochemische Parameter

Nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die mittleren Nüchternserumkonzentrationen der wichtigsten biochemischen Parameter des Studienkollektivs.

Tabelle 26: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, n=5

Parameter		mean \pm SD	Min. – Max.	Referenzbereich
α -Tocopherol [μ mol/l]		22,1 \pm 4,5	15,5 – 28,5	11-37
α -Tocopherol/Triacylglyceride [mmol/l]		22,5 \pm 11,2	12,4 – 48,1	> 1,1
Gesamtcholesterol [mmol/l]		4,8 \pm 1,2	3,1 – 6,7	< 5,2
LDL-Cholesterol [mmol/l]		2,6 \pm 1,1	0,4 – 3,9	< 3,4
HDL-Cholesterol [mmol/l]	♂	1,3 \pm 0,4	0,9 – 2,2	> 0,9
	♀	-	-	> 1,0
Triacylglyceride [mmol/l]		1,2 \pm 0,5	0,6 – 2,2	< 1,7

Die mittleren α -Tocopherol-, α -Tocopherol/Triacylglycerid-, Triacylglycerid- und Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol-Nüchternserumkonzentrationen des Studienkollektivs lagen innerhalb der Referenzbereiche. Lediglich vier von zehn Teilnehmern hatten leicht erhöhte Gesamtcholesterol-Spiegel (5,6; 5,7; 5,8; 6,7 mmol/l), einer leicht erhöhte Triacylglycerid-Konzentrationen (2,2 mmol/l) und drei leicht erhöhte LDL-Cholesterol-Konzentrationen (3,7; 3,8; 3,9 mmol/l). Bei einer Person lagen alle drei Parameter, bei einer Person zwei Parameter (Gesamt- und LDL- Cholesterol) und bei den übrigen drei Personen jeweils nur ein Parameter leicht erhöht vor.

Zwischen den einzelnen Untersuchungstagen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol (p=0,572), α -Tocopherol/Triacylglyceride (p=0,743), Triacylglyceriden (p=0,955), sowie Gesamt- (p=0,787), LDL- (p=0,436) und HDL-Cholesterol (p=0,705).

5.2.1.2 Biokinetische Parameter

Wie nachfolgende Tabelle zeigt, bestanden zwischen dem Frischkäse- und der Mayonnaise keine signifikanten Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol, gemessen als AUC_{0-24} . Die maximalen Serumkonzentrationen an α -Tocopherol (c_{max}) sowie die Zeit bis zum Erreichen dieser (t_{max}) unterschieden sich ebenfalls nicht signifikant voneinander.

Tabelle 27: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, n=5

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	p*
AUC_{0-24} (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h}/\text{l}$]	96,3 \pm 36,8	79,1 \pm 27,8	0,431
AUC_{0-24} (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h}/\text{l}$]	0,025 \pm 0,011	0,018 \pm 0,005	0,249
AUC_{0-24} (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h}/\text{l}$]	-0,001 \pm 0,001	0,0001 \pm 0,0004	0,235
c_{max} [$\mu\text{mol}/\text{l}$]	6,0 \pm 2,8	4,8 \pm 1,7	0,429
t_{max} [h]	8,4 \pm 2,5	7,2 \pm 1,6	0,397

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Mayonnaisekollektiv)

Im optischen Vergleich der Verläufe der Serumkonzentrationen an α -Tocopherol konnte eine bessere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise festgestellt werden (vgl. nachfolgende Abbildungen).

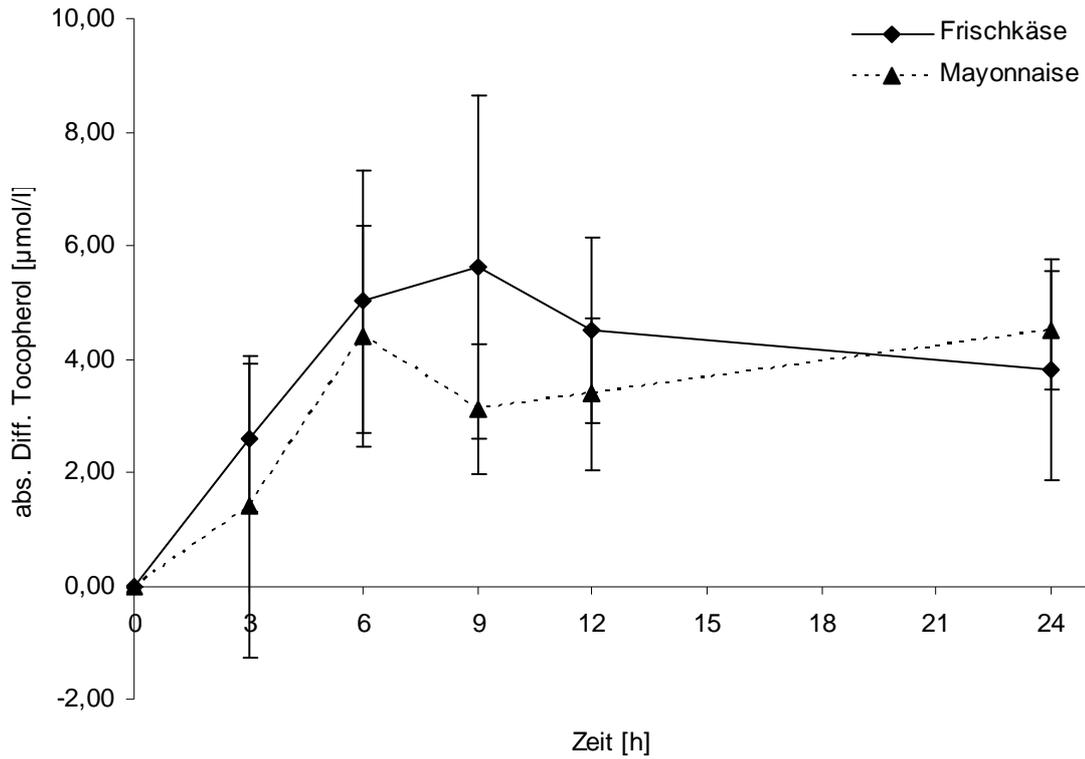


Abbildung 25: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

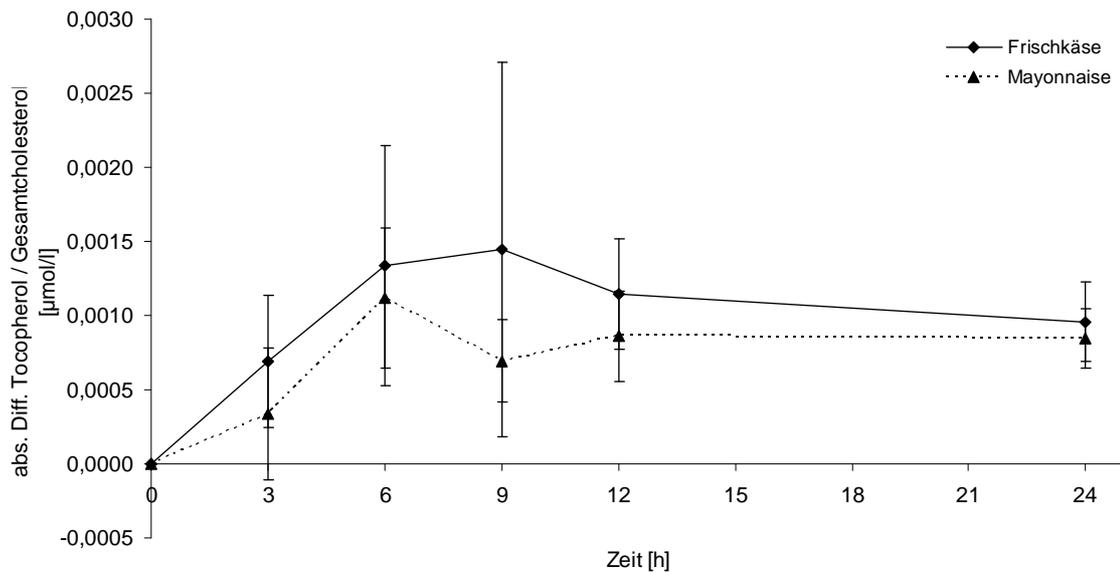


Abbildung 26: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

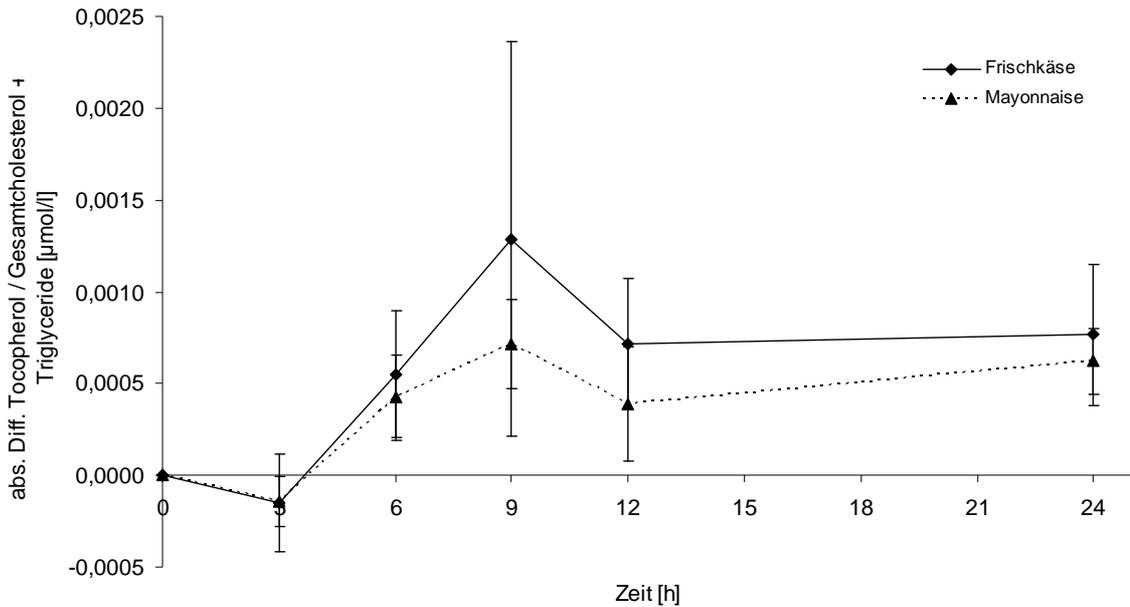


Abbildung 27: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=5, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

In dem Ausmaß der Absorption von α -Tocopherol, bestimmt als prozentuale Veränderungen der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol, ergaben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen der Absorption von α -Tocopherol aus dem Frischkäse und aus der Mayonnaise (siehe Tabellen im Anhang).

Die spezifischen Serumkonzentrationen zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten, sind den Tabellen im Anhang zu entnehmen.

5.2.1.3 Technologische Parameter

In der Kurzzeitkinetik der Studienphase II wurden der Frischkäse und die Mayonnaise aus der Studienphase I eingesetzt. Daher finden sich die Daten der technologischen Parameter in Kapitel 5.1.3.

5.2.2 Langzeitkinetik

5.2.2.1 Studienkollektiv

5.2.2.1.1 Anthropometrische Daten

Für die Langzeitkinetik-Untersuchung wurden 21 Personen (10 Männer, 11 Frauen) rekrutiert. Von diesen mussten im Laufe der Untersuchung drei Personen ausgeschlossen werden. Während ein Proband freiwillig aus Zeitgründen die Studie abbrach, konnten bei einer Teilnehmerin technologisch bedingt nicht alle Blutparameter ausgewertet werden. Des Weiteren traten bei einer Probandin allergische Reaktionen auf, die nicht auf das Prüfprodukt zurückzuführen waren, aber eine weitere Teilnahme an der Studie ausschlossen. Somit wurden 18 Personen in das Studienkollektiv der Langzeitkinetik in der zweiten Studienphase zur Auswertung der Daten eingeschlossen, von denen waren jeweils neun männlich und neun weiblich. Diese wurden in zwei Kollektive aufgeteilt: ein Frischkäsekollektiv mit fünf weiblichen und vier männlichen Studienteilnehmern und ein Mayonnaisekollektiv, von denen vier weiblich und fünf männlich waren. Das mittlere Alter des Frischkäsekollektivs betrug $28,3 \pm 4,0$ Jahre (Spanne: 22-34 Jahre) und das des Mayonnaisekollektivs $26,1 \pm 4,6$ Jahre (Spanne: 21-33 Jahre). Die anthropometrischen Daten können der Tabelle 28 entnommen werden. Von den Studienteilnehmern des Frischkäsekollektivs waren sieben normalgewichtig und zwei übergewichtig, während bei dem Mayonnaisekollektiv sechs als normalgewichtig und drei als übergewichtig eingestuft wurden. In dieser Studienphase wurde ein Parallelgruppenvergleich durchgeführt. Zwischen den Kollektiven bestanden keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Geschlechterverteilung ($p=0,637$), das Alter ($p=0,287$), die Körpergröße ($p=0,346$), das Körpergewicht ($p=0,255$) und den BMI ($p=0,382$).

Tabelle 28: Anthropometrische Daten des Kollektivs der Langzeitkinetik der Studienphase II, n=9

Parameter	Frischkäse (n=9)		Mayonnaise (n=9)	
	mean \pm SD	Min. – Max.	mean \pm SD	Min. – Max.
Körpergröße [m]	1,75 \pm 0,06	1,65 – 1,85	1,79 \pm 0,08	1,67 – 1,90
Körpergewicht [kg]	70,2 \pm 13,7	59,9 – 100,2	77,2 \pm 11,2	57,7 – 94,0
BMI [kg/m ²]	22,8 \pm 3,4	19,3 – 29,3	24,3 \pm 4,0	19,1 – 31,6

5.2.2.1.2 Ernährungsverhalten

In diesem Kollektiv ergab sich wiederum ein relativ einheitliches Ernährungsverhalten in Bezug auf die Aufnahme von Vitamin E. Keiner der Teilnehmer verzehrte Nahrungsergänzungsmittel die mit Vitamin E angereichert waren und zwei gelegentlich mit Vitamin E angereicherte Lebensmittel. Die Hälfte der Studienteilnehmer (n=9) nahm gelegentlich mit Vitamin E angereicherte Getränke zu sich. Zwei der Studienteilnehmer wies eine niedrige Zufuhr an Vitamin E auf, die unter dem Grundbedarf von 6 mg Vitamin E pro Tag lag, neun eine mittlere Zufuhr (über dem Grundbedarf) und sieben Teilnehmer eine hohe Zufuhr von mindestens 12 mg Vitamin E pro Tag.

5.2.2.1.3 Biochemische Parameter

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die mittleren Nüchternserumkonzentrationen der wichtigsten biochemischen Parameter der Studienteilnehmer.

Tabelle 29: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Langzeitkinetik der Studienphase II, n=9

Parameter		mean \pm SD	Min. – Max.	Referenzbereich
α -Tocopherol [μ mol/l]		25,8 \pm 4,5	18,8 – 34,3	11-37
α -Tocopherol/Triacylglyceride [mmol/l]		23,3 \pm 6,9	13,3 – 37,5	> 1,1
Gesamtcholesterol [mmol/l]		5,0 \pm 1,2	3,2 – 8,2	< 5,2
LDL-Cholesterol [mmol/l]		2,9 \pm 0,9	1,6 – 5,4	< 3,4
HDL-Cholesterol [mmol/l]	♂	1,7 \pm 0,4	1,0 – 2,2	> 0,9
	♀	1,6 \pm 0,5	1,0 – 2,6	> 1,0
Triacylglyceride [mmol/l]		1,2 \pm 0,4	0,6 – 2,3	< 1,7

Im Mittel lagen die Nüchternserumkonzentrationen des Studienkollektivs aller Parameter (α -Tocopherol, α -Tocopherol/Triacylglyceride, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceride) innerhalb der Referenzbereiche. Von den 18 Studienteilnehmern hatten sieben leicht erhöhte Gesamtcholesterol- (5,3-8,2 mmol/l) und vier erhöhte LDL-Cholesterol-Spiegel (3,5-5,4 mmol/l). Eine Person wies leicht erhöhte Triacylglyceridspiegel (2,3 mmol/l) auf. Zwischen den Kollektiven bestanden keine signifikanten Unterschiede der Nüchternserumspiegel von α -Tocopherol (p=0,625), α -Tocopherol/Triacylglyceride (p=0,484), Triacylglyceriden (p=0,796), sowie Gesamt- (p=0,868), LDL- (p=0,582) und HDL-Cholesterol (p=0,159).

5.2.2.2 Biokinetische Parameter

Nachfolgende Tabelle 30 zeigt, dass die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol über vier Wochen, gemessen als AUC_{0-4} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol) und AUC_{0-4} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol/Triacylglyceride), aus dem Frischkäse signifikant größer ($p=0,018$; $p=0,017$) war als aus der Mayonnaise. Die maximal erreichten Serumkonzentrationen von α -Tocopherol (c_{max}) sowie die Zeit bis zum Erreichen von c_{max} (t_{max}) unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Prüfprodukten.

Tabelle 30: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Langzeitkinetik der Studienphase II, n=9

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	p*
AUC_{0-4} (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{Woche}/\text{l}$]	20,6 \pm 11,8	18,8 \pm 8,0	0,709
AUC_{0-4} (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{Woche}/\text{l}$]	0,007 \pm 0,003	0,004 \pm 0,002	0,018
AUC_{0-4} (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{Woche}/\text{l}$]	0,004 \pm 0,002	0,002 \pm 0,001	0,017
c_{max} [$\mu\text{mol}/\text{l}$]	9,3 \pm 3,8	8,3 \pm 4,4	0,612
t_{max}	10,6**	8,4**	0,286***

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Mayonnaisekollektiv)

** mittlerer Rang

*** U-Test nach Mann und Whitney für unabhängige Stichproben

Der optische Vergleich der Verläufe der Serumkonzentrationen an α -Tocopherol zeigte eine größere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise (vgl. nachfolgende Abbildungen).

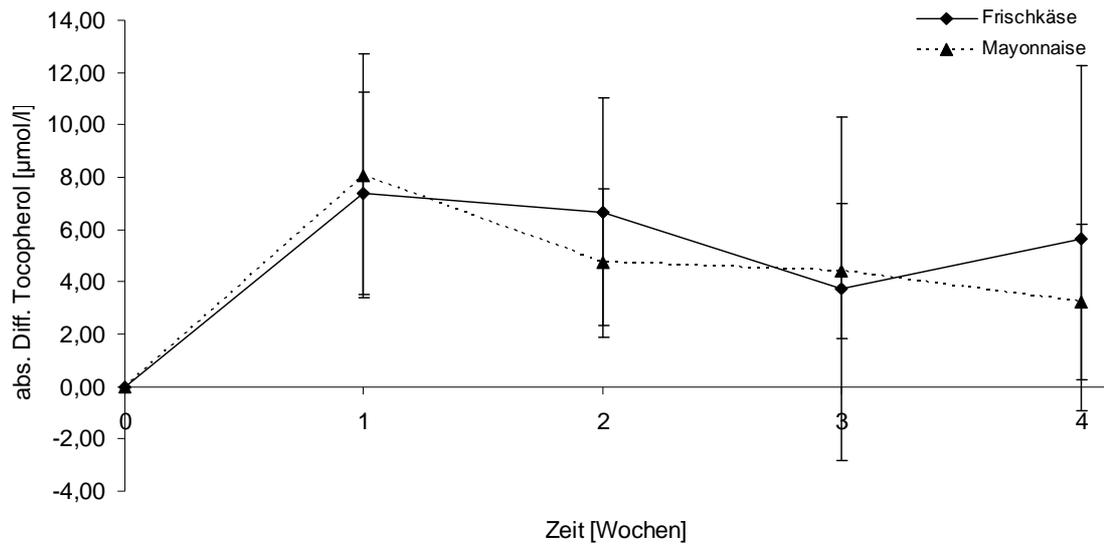


Abbildung 28: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Langzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=9, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

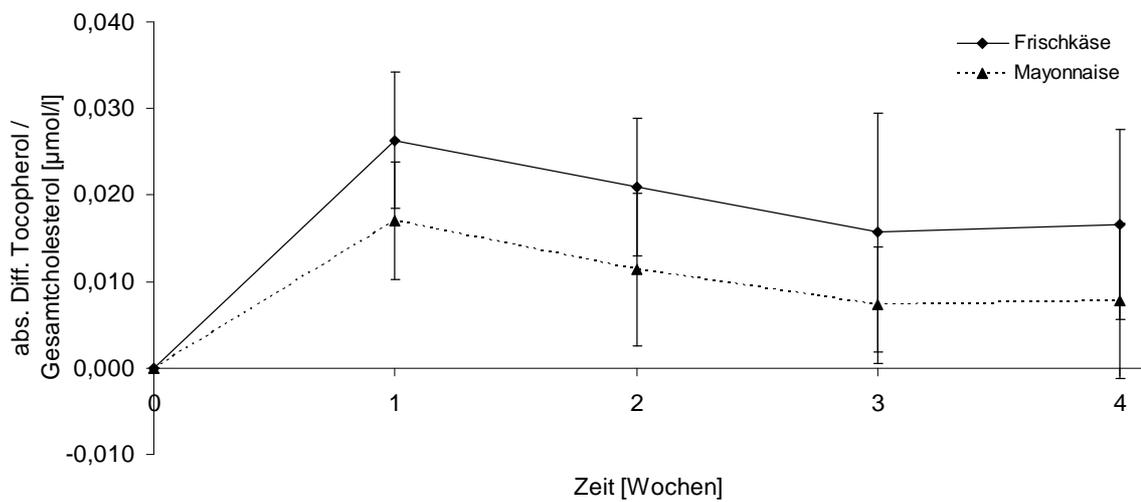


Abbildung 29: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Langzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=9, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

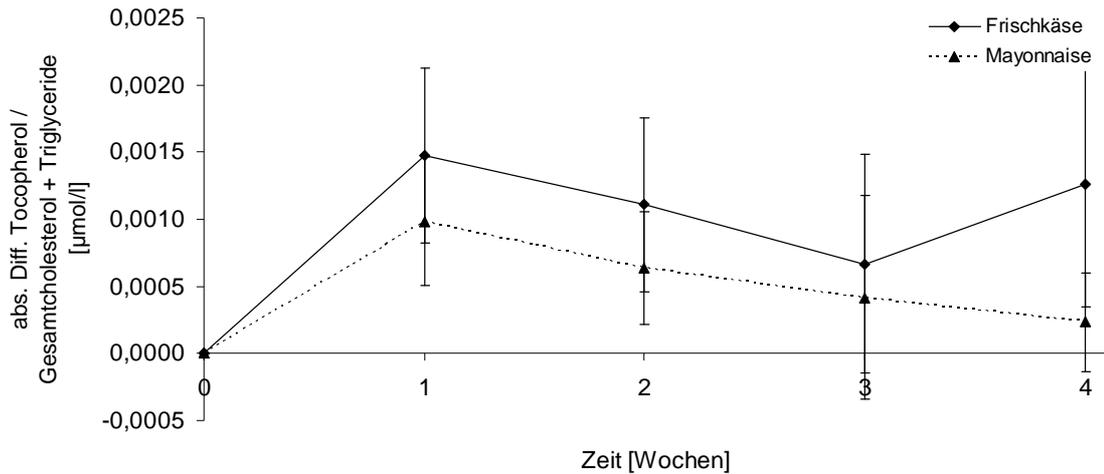


Abbildung 30: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Langzeitkinetik der Studienphase II, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=9, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

Wie in den Tabellen im Anhang zu sehen, spiegelte sich die signifikant bessere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise über vier Wochen in den prozentualen Veränderungen der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol wider, welche über den Interventionszeitraum nach dem Verzehr des Frischkäses signifikant größer waren als nach dem der Mayonnaise (α -Tocopherol, $p=0,027$; α -Tocopherol/Gesamtcholesterol, $p=0,007$; α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride, $p=0,021$).

Die Tabellen im Anhang zeigen der Vollständigkeit halber die Serumkonzentrationen von α -Tocopherol zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten

5.2.2.3 Technologische Parameter

In der Langzeitkinetik der Studienphase II wurden der Frischkäse und die Mayonnaise aus der Studienphase I als Prüfprodukte eingesetzt. Die Ergebnisse zu den technologischen Parametern finden sich in Kapitel 5.1.3.

5.3 Studienphase III

In Studienphase III wurden in einer Kurzzeitkinetik-Untersuchung über 24 h die Bioverfügbarkeiten von RRR- α -Tocopherol aus drei verschiedenen Prüfprodukten bestimmt und miteinander verglichen. Bei den eingesetzten Prüfprodukten handelte es sich um Frischkäse, der sich in der Partikelgröße der Lipidtropfen unterschied. Die

Studienteilnehmer erhielten einen Frischkäse nach der Standardrezeptur sowie jeweils einen mit größeren und einen mit kleineren Partikeln als die der Standardrezeptur.

5.3.1 Studienkollektiv

5.3.1.1 Anthropometrische Daten

In die Untersuchung wurden acht männliche Personen eingeschlossen. Die Serumparameter eines Probanden konnten technologisch bedingt nicht vollständig analysiert werden. Daher wurden letztendlich die Daten von sieben männlichen Personen mit einem mittleren Alter von $26,3 \pm 3,5$ Jahre (Spanne: 22-33 Jahre) ausgewertet. Die anthropometrischen Daten können der Tabelle 31 entnommen werden. Von den Studienteilnehmern waren keine Person untergewichtig, zwei Personen normalgewichtig, vier Personen übergewichtig und eine adipös. Aufgrund des Cross-over-Designs der Studienphase bestanden bezüglich der anthropometrischen Daten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kollektiven.

Tabelle 31: Anthropometrische Daten des Kollektivs der Studienphase III, n=7

Parameter	mean \pm SD	Min. – Max.
Körpergröße [m]	$1,82 \pm 0,06$	1,74 – 1,89
Körpergewicht [kg]	$88,4 \pm 15,0$	73,1 – 118,0
BMI [kg/m ²]	$26,5 \pm 3,4$	22,9 – 33,0

5.3.1.2 Ernährungsverhalten

Das Ernährungsverhalten in Bezug auf die Aufnahme von Vitamin E gestaltete sich wie folgt. Keiner der Teilnehmer verzehrte Nahrungsergänzungsmittel und einer gelegentlich Lebensmittel, die mit Vitamin E angereichert waren. Von den acht Studienteilnehmern nahmen zwei gelegentlich mit Vitamin E angereicherte Getränke zu sich. Der Ernährungserhebungsfragebogen zeigt, dass zwei der Studienteilnehmer eine mittlere Zufuhr, von ca. 6-12 mg Vitamin E pro Tag aufwiesen und fünf eine hohe Zufuhr von mindestens 12 mg Vitamin E pro Tag.

5.3.1.3 Biochemische Parameter

Nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die mittleren Nüchternserumkonzentrationen der wichtigsten biochemischen Parameter des Studienkollektivs.

Tabelle 32: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Studienphase III, n=7

Parameter	mean \pm SD	Min. – Max.	Referenzbereich
α -Tocopherol [μ mol/l]	27,0 \pm 3,0	21,1 – 32,3	11-37
α -Tocopherol/Triacylglyceride [mmol/l]	18,7 \pm 7,3	7,8 – 35,9	> 1,1
Gesamtcholesterol [mmol/l]	5,4 \pm 1,0	3,1 – 6,4	< 5,2
LDL-Cholesterol [mmol/l]	3,3 \pm 0,8	1,5 – 4,4	< 3,4
HDL-Cholesterol [mmol/l]	♂ 1,3 \pm 0,3	0,8 – 1,7	> 0,9
	♀ -	-	> 1,0
Triacylglyceride [mmol/l]	1,8 \pm 0,9	0,6 – 3,7	< 1,7

Die α -Tocopherol und LDL- sowie HDL-Cholesterol-Nüchternkonzentrationen des Studienkollektivs lagen im Mittel innerhalb der Referenzbereiche, während die mittleren Gesamtcholesterol- und Triacylglyceridspiegel knapp über dem Referenzbereich lagen. Im Einzelnen wiesen sechs von sieben Studienteilnehmern zu jedem der Untersuchungstage Gesamtcholesterol-Konzentrationen (5,3-6,4 mmol/l) auf, die an der oberen Grenze oder oberhalb der Referenzbereiche lagen. Außerdem lagen die Triacylglyceridspiegel von zwei Teilnehmern an allen drei Tagen über dem Referenzbereich (3,1-3,7 mmol/l) und von einem Teilnehmer an zwei Untersuchungstagen darüber (2,2 und 2,3 mmol/l).

Die Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol ($p=0,754$), α -Tocopherol/Triacylglyceride ($p=0,967$), Triacylglyceriden ($p=0,912$), sowie Gesamt- ($p=0,860$), LDL- ($p=0,791$) und HDL-Cholesterol ($p=0,768$) wiesen zwischen den drei Untersuchungstagen keine signifikanten Unterschiede auf. Lediglich bei den α -Tocopherol-Konzentrationen zeigte sich ein Trend zur Signifikanz ($p=0,064$) dahingehend, dass die α -Tocopherol-Werte des Frischkäses mit den kleinen Partikelgrößen (28,0 \pm 2,6 mmol/l), über den Serumkonzentrationen des Frischkäses mit den großen Partikeln (25,5 \pm 2,1 mmol/l) lagen.

5.3.2 Biokinetische Parameter

Nachfolgende Tabelle zeigt die biokinetischen Parameter der drei Prüfprodukte im Vergleich.

Tabelle 33: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, mittlerer Rang) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße, Frischkäse normale und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	kleine Partikel	normale Partikel	große Partikel	p*
AUC ₀₋₂₄ (α-Tocopherol)	13,1	10,7	9,1	0,478
AUC ₀₋₂₄ (α-Tocopherol/TC)	14,2	12,3	6,5	0,052
AUC ₀₋₂₄ (α-Tocopherol/TC+TG)	13,9	12,9	9,3	0,043
C _{max}	12,1	8,5	12,4	0,423
t _{max}	9,1	11,6	12,4	0,538

* H-Test nach Kruskal und Wallis für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse kleine Partikel, Kollektiv Frischkäse normale Partikel, Kollektiv Frischkäse große Partikel)

In der Bioverfügbarkeit von α-Tocopherol, gemessen als AUC₀₋₂₄ (α-Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride), bestanden signifikante Unterschiede (p=0,043) zwischen den Prüfprodukten. Die weiterführende Analyse (vgl. Tabellen 34-36) ergab im Einzelnen eine signifikant größere Bioverfügbarkeit von α-Tocopherol aus dem Frischkäse mit den kleinen Partikeln als aus dem Frischkäse mit den großen Partikeln (AUC₀₋₂₄ (α-Tocopherol/Gesamtcholesterol), p=0,015; AUC₀₋₂₄ (α-Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride), p=0,036). Darüber hinaus war die Bioverfügbarkeit von α-Tocopherol aus dem Frischkäse nach der Standardrezeptur signifikant größer als die aus dem Frischkäse mit den großen Partikeln (AUC₀₋₂₄ (α-Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride), p=0,012). Die maximal erreichten Serumkonzentrationen von α-Tocopherol (c_{max}) sowie die Zeit bis zum Erreichen von c_{max} (t_{max}) unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Prüfprodukten.

Tabelle 34: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße und Frischkäse normale Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	kleine Partikel	normale Partikel	p*
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	98,4 \pm 53,8	76,2 \pm 52,9	0,451
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,018 \pm 0,007	0,016 \pm 0,008	0,645
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,009 \pm 0,006	0,009 \pm 0,004	0,892
C _{max} [$\mu\text{mol/l}$]	6,2 \pm 3,6	4,6 \pm 2,8	0,382
t _{max} [h]	4,1 \pm 1,1	4,7 \pm 1,6	0,403

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse kleine Partikel vs. Kollektiv Frischkäse normale Partikel)

Tabelle 35: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse normale Partikelgröße und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	normale Partikel	große Partikel	p*
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	76,2 \pm 52,9	57,7 \pm 33,3	0,451
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,016 \pm 0,008	0,009 \pm 0,004	0,069
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,009 \pm 0,004	0,003 \pm 0,004	0,012
C _{max} [$\mu\text{mol/l}$]	4,6 \pm 2,8	6,5 \pm 2,3	0,210
t _{max} [h]	4,7 \pm 1,6	4,7 \pm 1,0	1,000

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse normale Partikel vs. Kollektiv Frischkäse große Partikel)

Tabelle 36: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	kleine Partikel	große Partikel	p*
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	98,4 \pm 53,8	57,7 \pm 33,3	0,115
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,018 \pm 0,007	0,009 \pm 0,004	0,015
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,009 \pm 0,006	0,003 \pm 0,004	0,036
c _{max} [$\mu\text{mol/l}$]	6,2 \pm 3,6	6,5 \pm 2,3	0,871
t _{max} [h]	4,1 \pm 1,1	4,7 \pm 1,0	0,290

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse kleine Partikel vs. Kollektiv Frischkäse große Partikel)

Anhand des optischen Vergleichs der Verläufe der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol (vgl. nachfolgende Abbildungen) konnten keine eindeutigen Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zwischen den drei Prüfprodukten beobachtet werden.

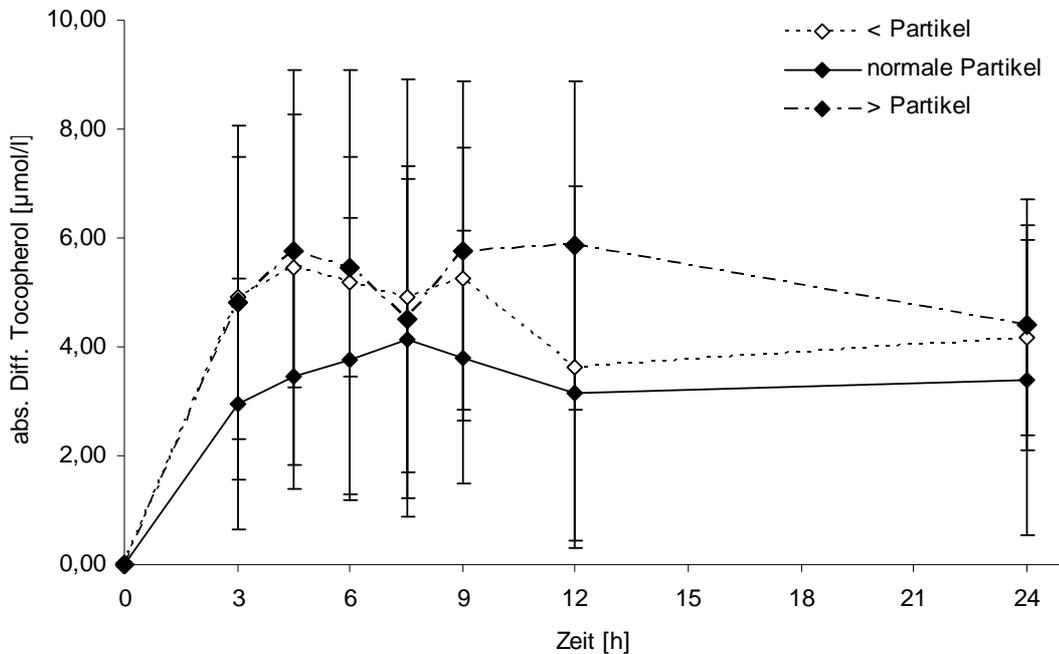


Abbildung 31: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Studienphase III, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=7, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

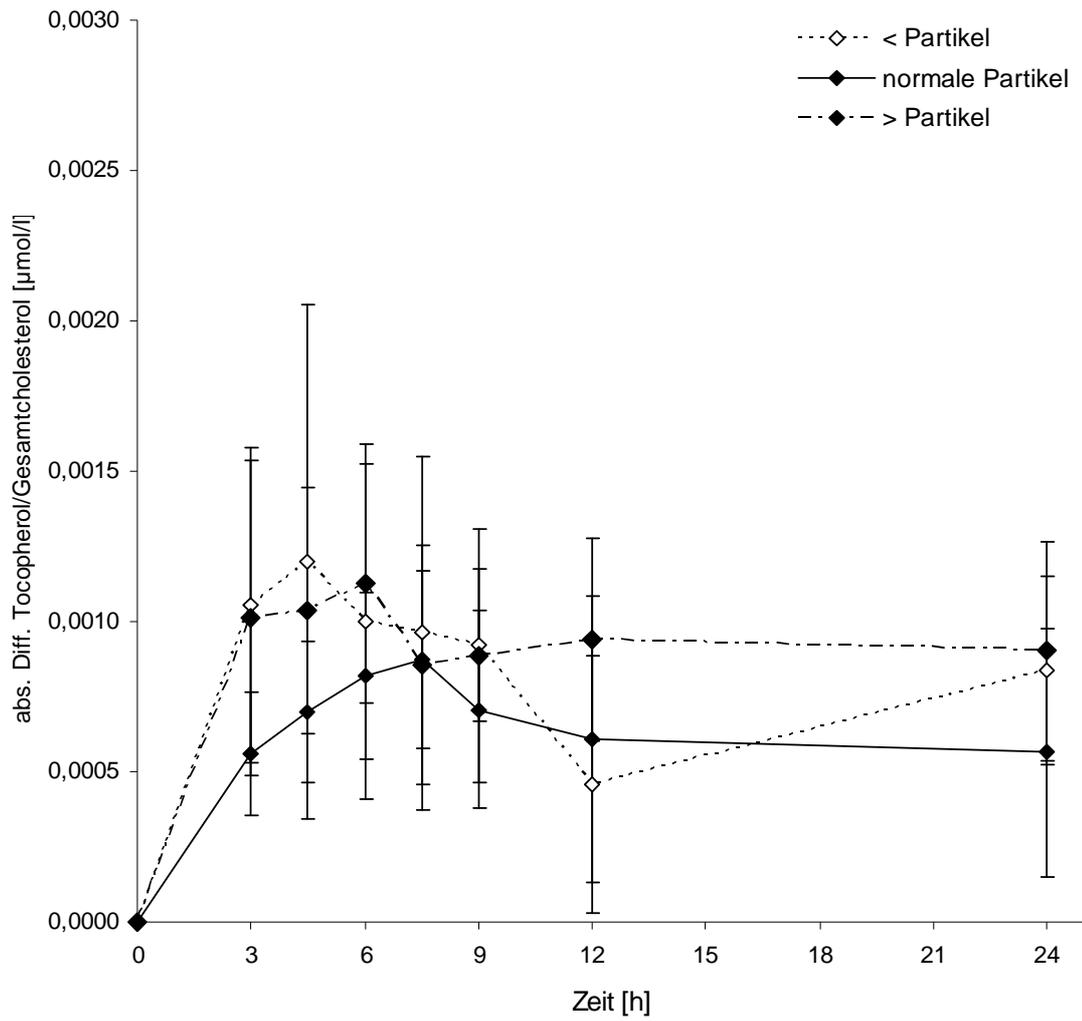


Abbildung 32: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Studienphase III, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=7, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

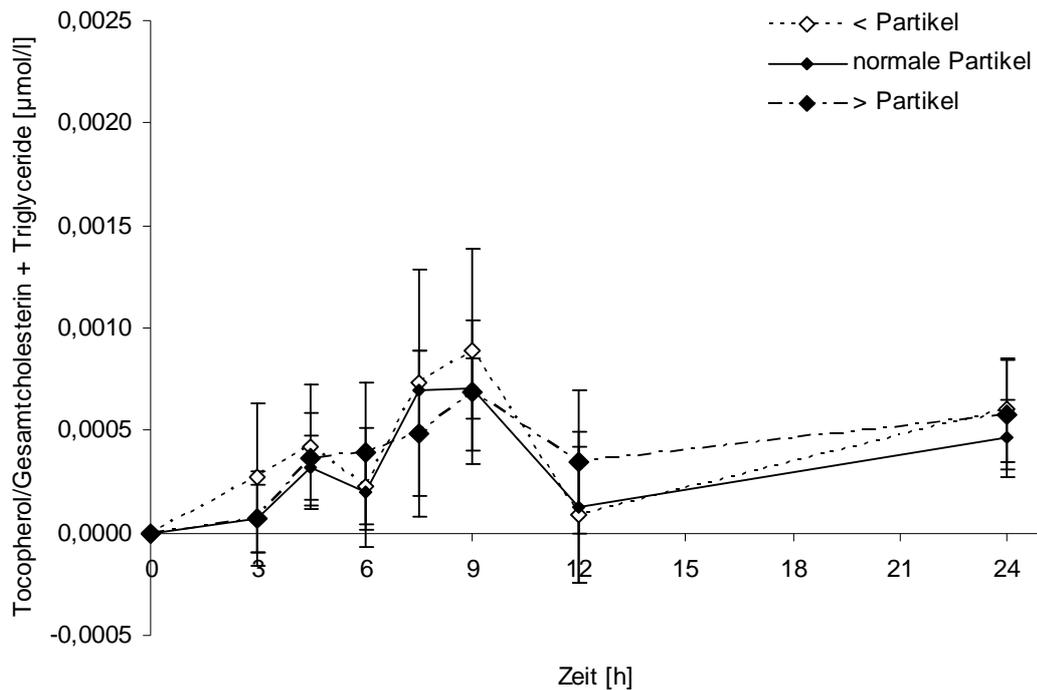


Abbildung 33: α -Tocopherol/Gesamtcholesterin+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Studienphase III, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=7, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

Die zur weiteren Abschätzung der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol genutzten prozentualen Veränderungen der Serumkonzentrationen an α -Tocopherol wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Prüfprodukten auf (siehe Tabellen im Anhang).

Der Vollständigkeit halber sind in den Tabellen im Anhang die Serumkonzentrationen zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten aufgeführt.

5.3.3 Technologische Parameter

5.3.3.1 Partikelgrößenverteilung

Die Partikelgrößenverteilung zeigte, dass die Tröpfchen des Frischkäses mit den kleinen Partikeln am kleinsten, die des Frischkäses mit den großen Partikeln am größten waren und die des Frischkäses mit der normalen Partikelgröße dazwischen lagen. Dieses Verhältnis spiegelte sich in der Größe der spezifischen Grenzfläche wider, die beim Frischkäse mit kleinen Partikeln am größten, bei dem Frischkäse mit den größten Partikeln am kleinsten und bei dem Standardfrischkäse zwischen den beiden anderen lag. Der Größenverteilungskoeffizient war bei allen drei Prüfprodukten unter vier. Damit waren

die Emulsionen alle als monodispers einzustufen. Dabei war δ bei dem Frischkäse mit den kleinen Partikeln und dem mit den großen Partikeln etwa gleich groß, während δ bei dem Frischkäse mit der normalen Partikelgröße größer als die anderen war und damit ein größeres Spektrum an Tröpfchengrößen aufwies.

Tabelle 37: Partikelgrößenverteilung der Prüfprodukte der Studienphase III mit X_{10} , X_{50} und X_{90} , dem Größenverteilungskoeffizienten (δ) sowie der spezifischen Grenzfläche (GF_0)

Prüfprodukt	X_{10} [μm]	X_{50} [μm]	X_{90} [μm]	δ	GF_0 [m^2/g]
Frischkäse kleine Partikel	0,47	1,4	2,87	1,71	6,72
Frischkäse normale Partikel	0,87	6,1	19,36	3,03	2,83
Frischkäse große Partikel	2,47	21,2	40,36	1,79	0,98

5.3.3.2 Extrahierbarer Fettanteil

Der extrahierbare Fettanteil war beim Frischkäse mit den kleinen Partikeln und dem mit den normalen Partikeln etwa gleich groß, während der EFA bei dem Frischkäse mit den großen Partikeln dreimal so groß war.

Tabelle 38: Extrahierbarer Fettanteil (EFA) der Prüfprodukte der Studienphase III als Mittelwert \pm Standardabweichung

Prüfprodukt	EFA [$\text{g}/100$ g Fett]
Frischkäse kleine Partikel	0,30 \pm 0,03
Frischkäse normale Partikel	0,31 \pm 0,05
Frischkäse große Partikel	1,04 \pm 0,13

5.4 Studienphase IV

In Studienphase IV wurden Bioverfügbarkeiten von RRR- α -Tocopherol aus vier verschiedenen Prüfprodukten über 24 h bestimmt und miteinander verglichen. Dabei wurden die Lipidemulsionen des Frischkäses aus den Studienphasen I und II eingesetzt und zwar einmal mit einem pH-Wert von 6,5 und mit einem pH-Wert von 4,5 sowie diese jeweils in getrockneter Form.

5.4.1 Studienkollektiv

5.4.1.1 Anthropometrische Daten

Das Studienkollektiv der vierten Studienphase umfasste acht männliche Personen, mit einem mittleren Alter von $31,3 \pm 3,7$ Jahre (Spanne: 24-37 Jahre). Die anthropometrischen Daten können der Tabelle 39 entnommen werden. Von den Studienteilnehmern war keine Person untergewichtig, vier Personen waren normalgewichtig, vier Personen übergewichtig und keine adipös. Bezüglich der anthropometrischen Daten bestanden, aufgrund des Studiendesigns (Cross-over) der Studienphase, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kollektiven.

Tabelle 39: Anthropometrische Daten des Kollektivs der Studienphase IV, n=8

Parameter	mean \pm SD	Min. – Max.
Körpergröße [m]	$1,83 \pm 0,05$	1,74 – 1,90
Körpergewicht [kg]	$85,3 \pm 11,0$	67,8 – 98,0
BMI [kg/m ²]	$25,4 \pm 2,6$	21,3 – 29,0

5.4.1.2 Ernährungsverhalten

Nachfolgend ist das Ernährungsverhalten der Studienteilnehmer in Bezug auf die Aufnahme von Vitamin E dargestellt. Keiner der Teilnehmer nahm Nahrungsergänzungsmittel mit Vitamin E, eine Person verzehrte gelegentlich Lebensmittel, die mit Vitamin E angereichert waren und vier Studienteilnehmern nahmen gelegentlich mit Vitamin E angereicherte Getränke zu sich. Einer der Studienteilnehmer nahm durchschnittlich zwischen 6 und 12 mg Vitamin E pro Tag auf, während die übrigen sieben Teilnehmer eine tägliche Vitamin-E-Zufuhr von über 12 mg hatten.

5.4.1.3 Biochemische Parameter

Nachstehende Tabelle gibt einen Überblick über die mittleren Nüchternserumkonzentrationen der wichtigsten biochemischen Parameter des Studienkollektivs.

Tabelle 40: Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceriden des Studienkollektivs der Studienphase IV, n=8

Parameter		mean \pm SD	Min. – Max.	Referenzbereich
α -Tocopherol [μ mol/l]		29,3 \pm 6,8	15,1 – 42,9	11-37
α -Tocopherol/Triacylglyceride [mmol/l]		23,7 \pm 10,6	6,9 – 55,4	> 1,1
Gesamtcholesterol [mmol/l]		5,0 \pm 1,1	2,8 – 7,1	< 5,2
LDL-Cholesterol [mmol/l]		3,0 \pm 0,9	1,3 – 4,8	< 3,4
HDL-Cholesterol [mmol/l]	♂	1,3 \pm 0,3	0,9 – 1,9	> 0,9
	♀	-	-	> 1,0
Triacylglyceride [mmol/l]		1,5 \pm 0,8	0,6 – 3,2	< 1,7

In diesem Studienkollektiv lagen die mittleren Nüchternserumkonzentrationen aller Parameter (α -Tocopherol, α -Tocopherol/Triacylglyceride, Gesamt-, LDL- sowie HDL-Cholesterol und Triacylglyceride) innerhalb der Referenzbereiche. Jeweils zwei bzw. drei Studienteilnehmer wiesen an den Untersuchungstagen Gesamt- (5,5-7,1 mmol/l), sowie LDL-Cholesterol- (3,5-4,8 mmol/l) und Triacylglycerid-Serumkonzentrationen (2,1-3,2 mmol/l) auf, die über den Referenzbereichen lagen. Die Gesamtcholesterolspiegel zweier Studienteilnehmer lagen an allen Untersuchungstagen und von einer Person an zwei Tagen über dem Referenzbereich. Zwei Teilnehmer wiesen an drei Untersuchungstagen leicht erhöhte LDL-Cholesterol-Serumkonzentrationen auf und drei an einem Untersuchungstag.

Der Vergleich zwischen den vier Untersuchungstagen zeigte keine signifikanten Unterschiede der Nüchternserumwerte von α -Tocopherol ($p=0,405$), α -Tocopherol/Triacylglyceride ($p=0,351$), Triacylglyceriden ($p=0,973$), sowie Gesamt- ($p=0,964$), LDL- ($p=0,997$) und HDL-Cholesterol ($p=0,979$).

5.4.2 Biokinetische Parameter

Die Darstellung der Ergebnisse der biokinetischen Parameter erfolgt getrennt nach den spezifischen vorgenommenen Gegenüberstellungen. So werden zunächst die Bioverfügbarkeiten von α -Tocopherol aus den ungetrockneten Emulsionen, anschließend die aus den getrockneten Emulsionen, dann die Emulsionen mit den gleichen pH-Werten (ungetrocknet und getrocknet) und abschließend die aller Prüfprodukte verglichen.

Vergleich der Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5:

Wie nachfolgende Tabelle zeigt, konnten keine signifikanten Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol, gemessen als AUC_{0-24} , aus den ungetrockneten Emulsionen bestimmt werden. Auch die maximalen Serumkonzentrationen von α -Tocopherol (c_{max}) sowie die Zeit bis zum Erreichen dieser c_{max} (t_{max}) unterschieden sich nicht signifikant.

Tabelle 41: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5	pH-Wert 4,5	p*
AUC_{0-24} (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h}/\text{l}$]	79,0 \pm 42,0	85,3 \pm 17,1	0,697
AUC_{0-24} (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h}/\text{l}$]	0,016 \pm 0,012	0,019 \pm 0,006	0,531
AUC_{0-24} (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h}/\text{l}$]	0,008 \pm 0,01	0,009 \pm 0,004	0,674
c_{max} [$\mu\text{mol}/\text{l}$]	3,5 \pm 1,6	4,8 \pm 1,2	0,088
t_{max} [h]	5,6 \pm 2,2	5,8 \pm 2,0	0,863

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion pH-Wert 4,5)

Die optische Überprüfung der Verläufe der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol weist auf eine geringfügig bessere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus der Emulsion mit dem niedrigeren pH-Wert von 4,5 hin (vgl. nachfolgende Abbildung).

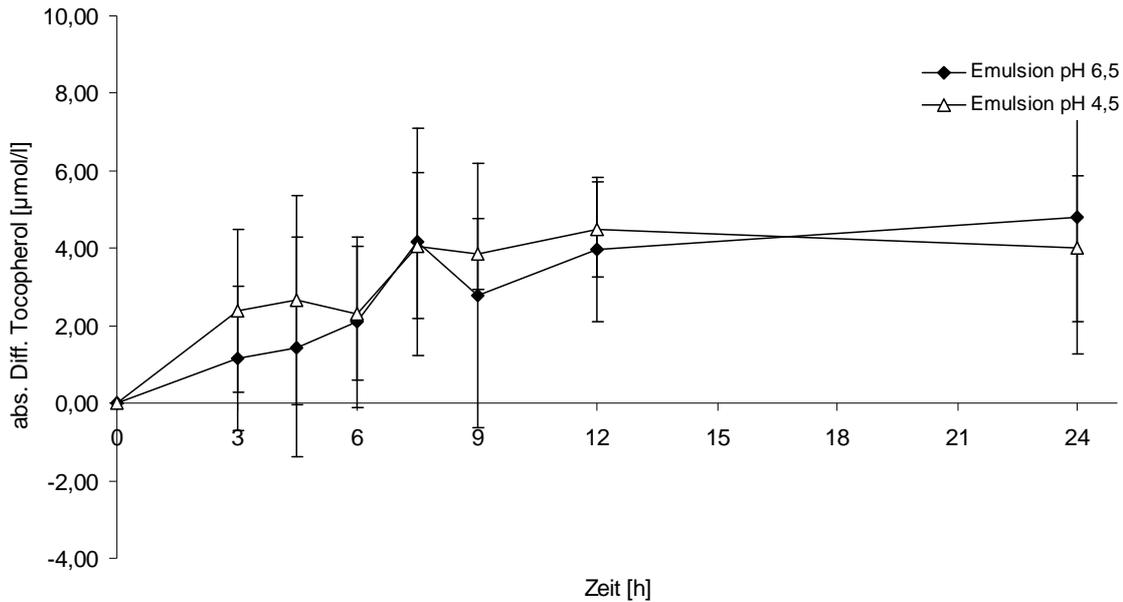


Abbildung 34: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

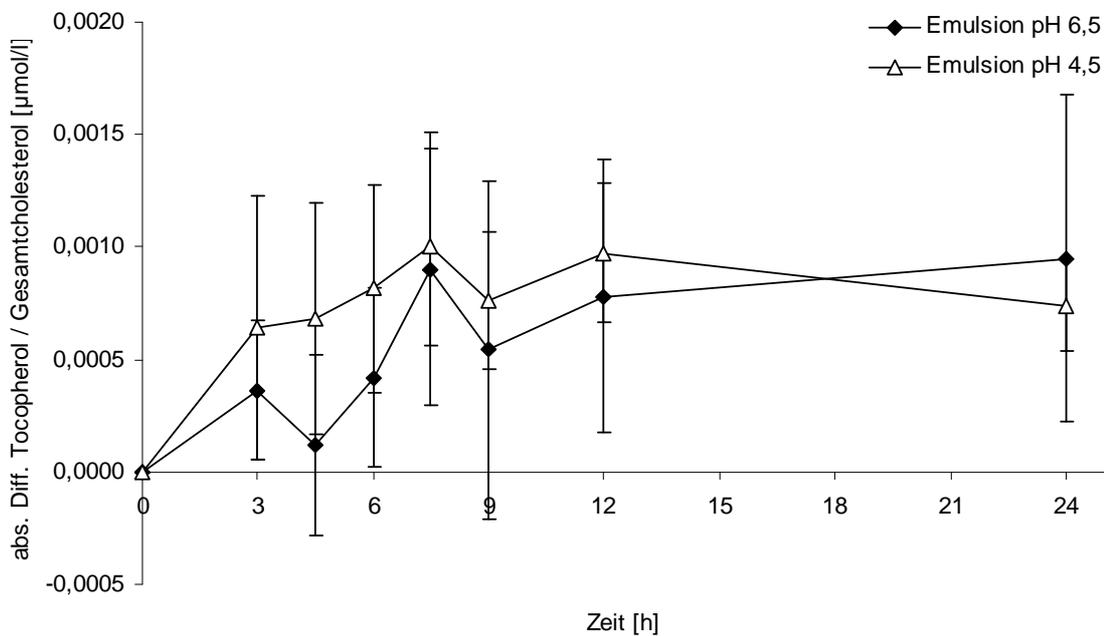


Abbildung 35: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

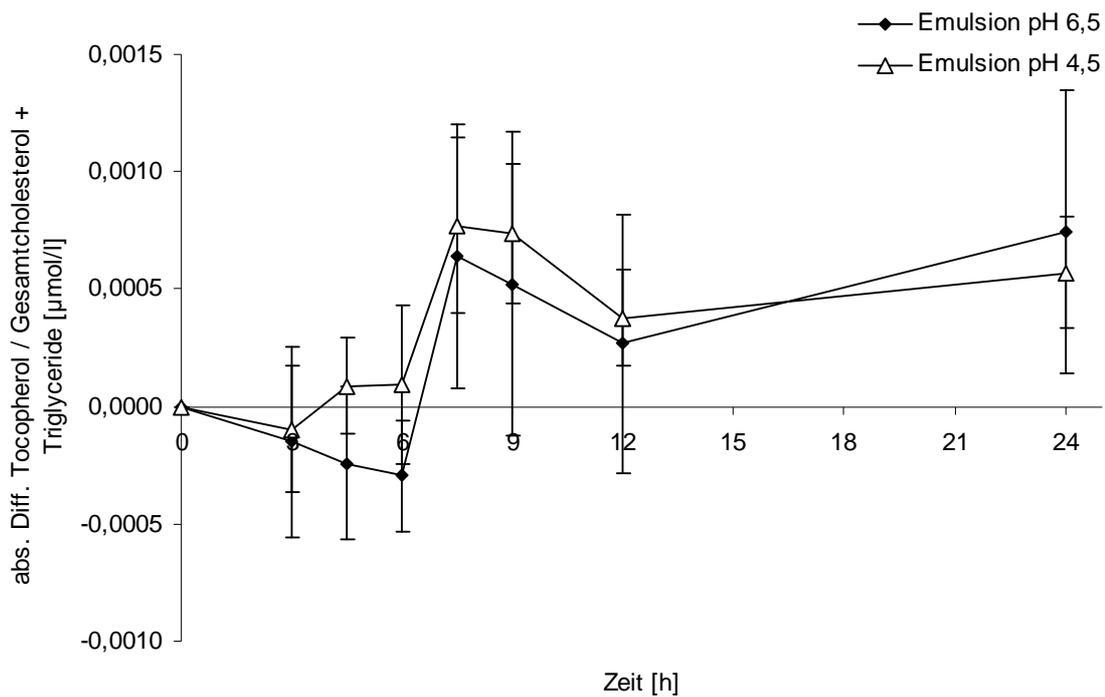


Abbildung 36: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

Dies spiegelt sich in den prozentualen Veränderungen der Serumkonzentrationen wider, bei denen die Anstiege nach dem Verzehr der Emulsion mit den pH-Wert von 4,5 signifikant höher ($p=0,037$) waren als nach dem der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 (siehe Tabellen im Anhang).

Vergleich der Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5:

Wie Tabelle 42 zeigt, war bei dem Vergleich der getrockneten Prüfprodukte die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 signifikant größer als aus der Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 (AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol), $p=0,031$; AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride), $p=0,039$). Die maximalen Serumkonzentrationen von α -Tocopherol (c_{max}) sowie die Zeit bis zum Erreichen von c_{max} (t_{max}) unterschieden sich nach dem Verzehr der Prüfprodukte nicht signifikant voneinander.

Tabelle 42: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5 getrocknet	pH-Wert 4,5 getrocknet	p*
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	72,4 \pm 58,4	25,5 \pm 34,3	0,070
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,014 \pm 0,009	0,005 \pm 0,006	0,031
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,003 \pm 0,007	-0,004 \pm 0,007	0,039
C _{max} [$\mu\text{mol/l}$]	4,5 \pm 3,9	4,1 \pm 2,8	0,828
t _{max} [h]	6,6 \pm 0,8	5,4 \pm 1,4	0,069

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv getrocknet Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5)

Die höhere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus der getrockneten Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 gegenüber der aus der getrockneten Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 konnte durch eine optische Überprüfung der Verläufe der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen bestätigt werden (vgl. nachfolgende Abbildungen).

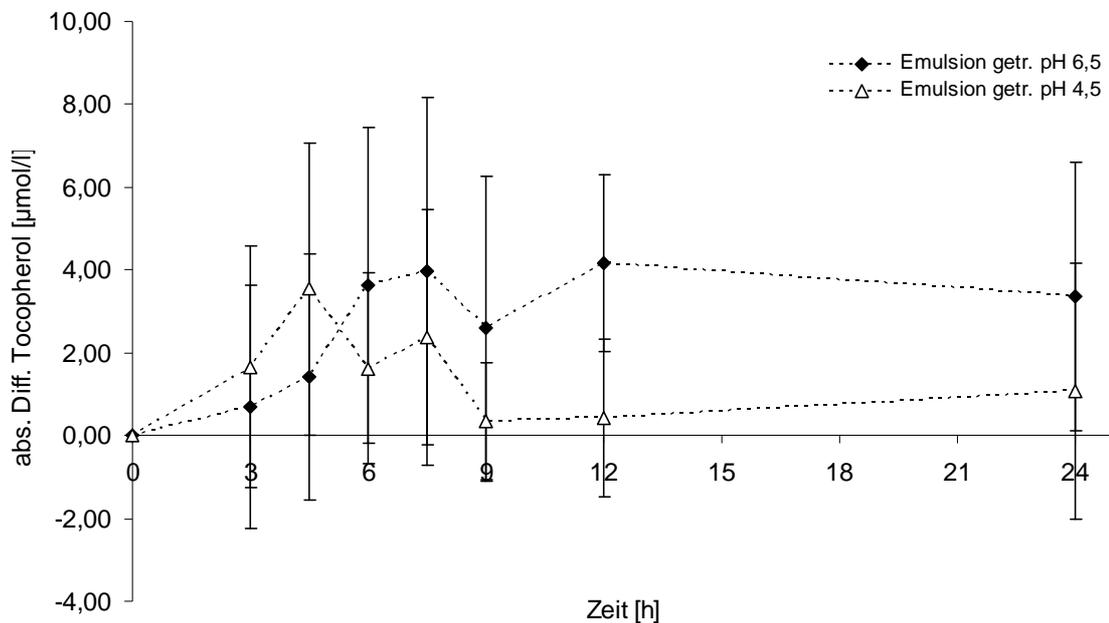


Abbildung 37: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert getrocknet 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

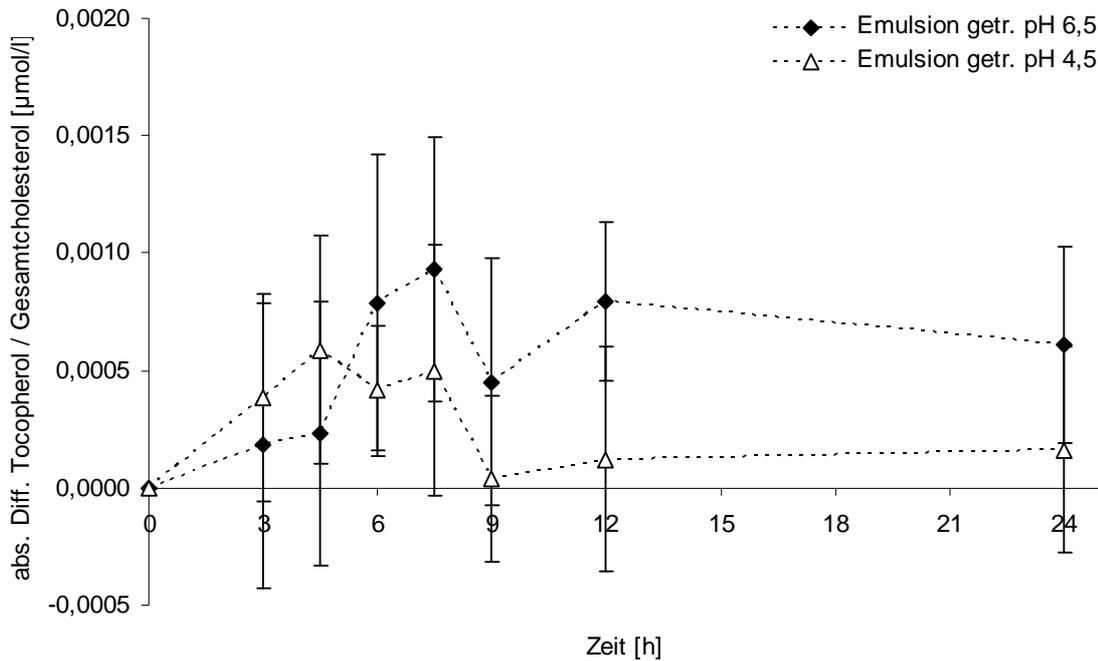


Abbildung 38: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert getrocknet 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

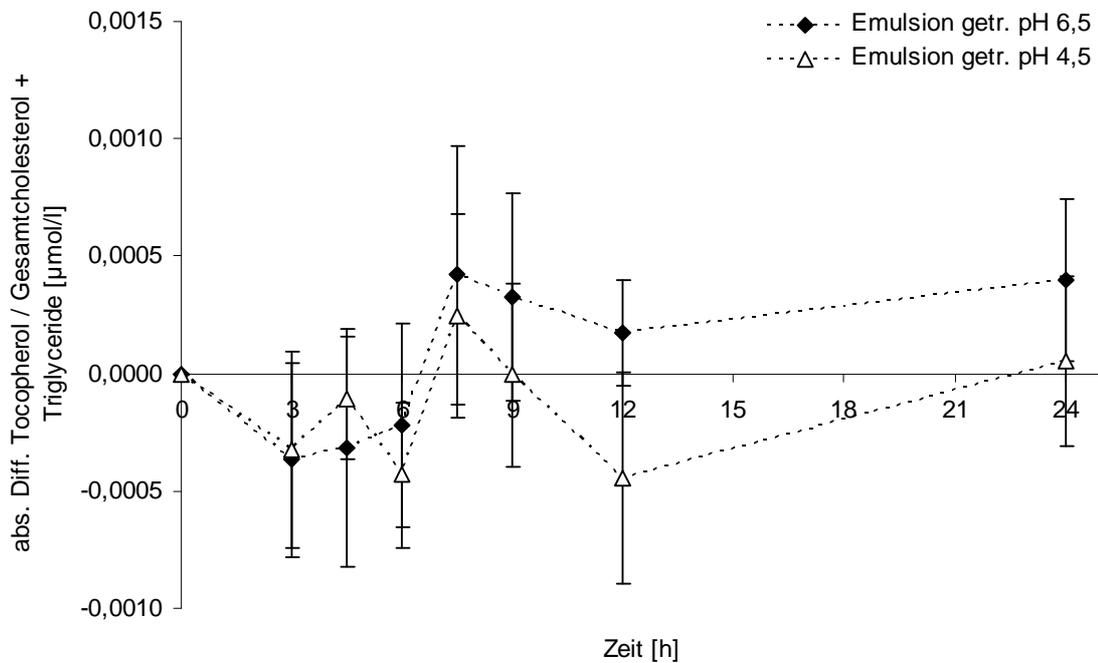


Abbildung 39: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert getrocknet 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

Die prozentualen Veränderungen der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol unterschieden sich nicht signifikant voneinander (siehe Tabellen im Anhang).

Vergleich der Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5:

Tabelle 43 zeigt, dass zwischen den Emulsionen mit einem pH-Wert von 6,5 (ungetrocknet und getrocknet) keine signifikanten Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol, gemessen als AUC_{0-24} , bestanden. Auch in den maximalen Serumkonzentrationen von α -Tocopherol (c_{max}) sowie der Zeit bis zum Erreichen dieser (t_{max}) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Prüfprodukten festgestellt werden.

Tabelle 43: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5	pH-Wert 6,5 getrocknet	p*
AUC_{0-24} (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h}/\text{l}$]	79,0 \pm 42,0	72,4 \pm 58,4	0,801
AUC_{0-24} (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h}/\text{l}$]	0,016 \pm 0,012	0,014 \pm 0,009	0,727
AUC_{0-24} (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h}/\text{l}$]	0,008 \pm 0,01	0,003 \pm 0,007	0,367
c_{max} [$\mu\text{mol}/\text{l}$]	3,5 \pm 1,6	4,5 \pm 3,9	0,498
t_{max} [h]	5,6 \pm 2,2	6,6 \pm 0,8	0,292

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5)

Anhand eines optischen Vergleichs der Verläufe der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol nach Verzehr der Prüfprodukte mit einem pH-Wert von 6,5 (ungetrocknet und getrocknet) konnte ebenfalls kein Unterschied in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zwischen den Prüfprodukten festgestellt werden (vgl. nachfolgende Abbildungen).

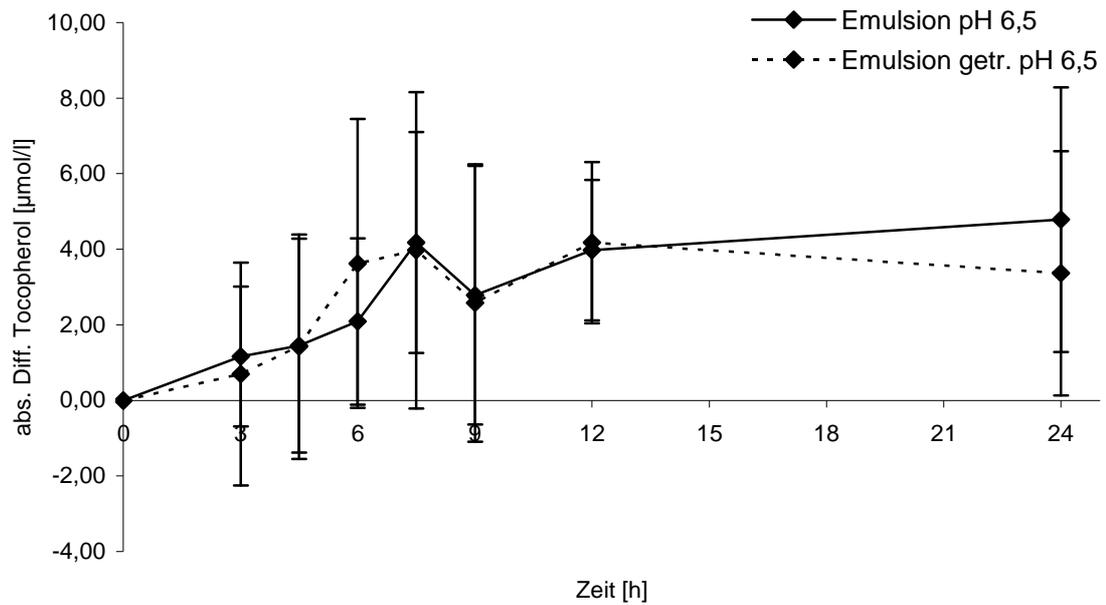


Abbildung 40: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

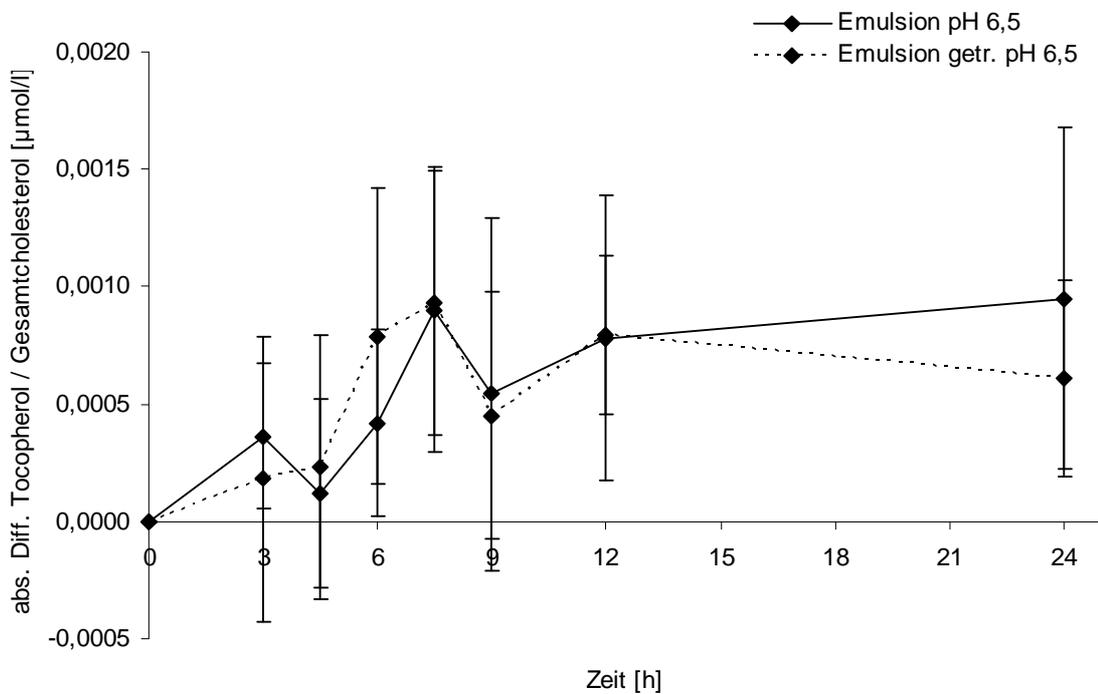


Abbildung 41: α -TocopherolGesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

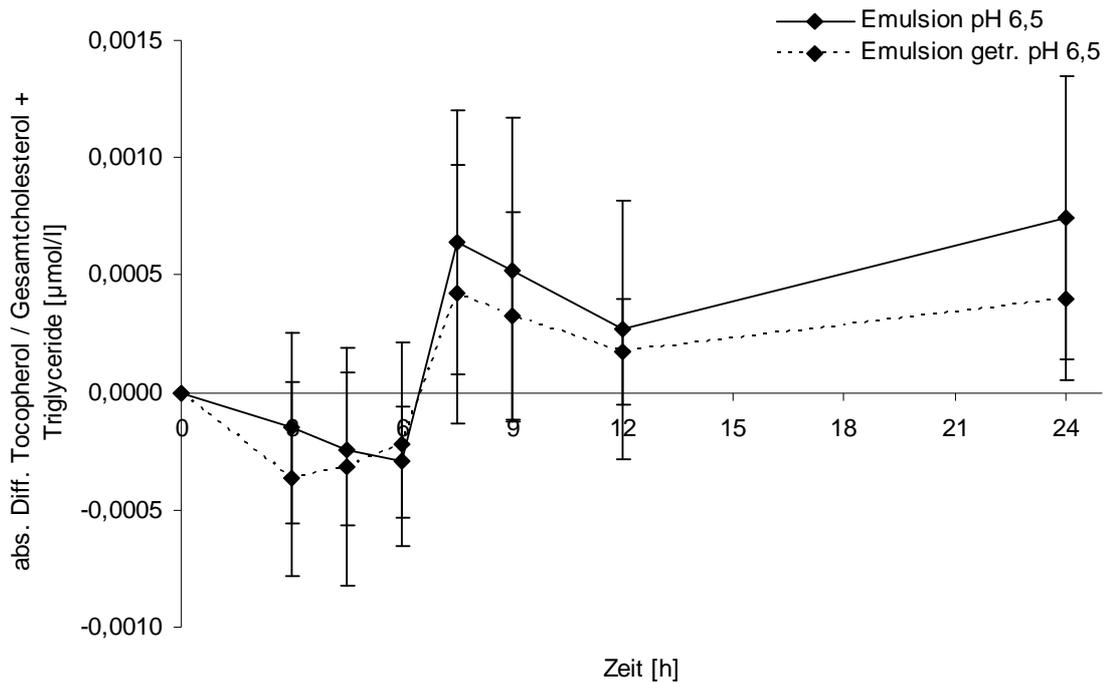


Abbildung 42: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

Zur weiteren Abschätzung des Ausmaßes der Absorption von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten dienten die prozentualen Veränderungen der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen, welche sich, wie die Tabellen im Anhang zeigen, nicht signifikant zwischen den Prüfprodukten unterschieden.

Vergleich der Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5:

Nachfolgende Tabelle 44 zeigt den Vergleich der Emulsionen mit dem pH-Wert von 4,5 (ungetrocknet und getrocknet). Hier war eine signifikant größere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol, gemessen als AUC_{0-24} , aus der ungetrockneten Emulsion gegenüber der getrockneten zu verzeichnen (AUC_{0-24} (α -Tocopherol), $p=0,001$; AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol), $p<0,001$; AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride), $p<0,001$). Weder bei der maximalen Serumkonzentration (c_{max}) noch bei der Zeit bis zum Erreichen dieser (t_{max}) konnten signifikante Unterschiede zwischen den Prüfprodukten nachgewiesen werden.

Tabelle 44: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 4,5	pH-Wert 4,5 getrocknet	p*
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	85,3 \pm 17,1	25,5 \pm 34,3	0,001
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,019 \pm 0,006	0,005 \pm 0,006	<0,001
AUC ₀₋₂₄ (α -Tocopherol/TC+TG) [$\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$]	0,009 \pm 0,004	-0,004 \pm 0,007	<0,001
C _{max} [$\mu\text{mol/l}$]	4,8 \pm 1,2	4,1 \pm 2,8	0,555
t _{max} [h]	5,8 \pm 2,0	5,4 \pm 1,4	0,672

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 4,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5)

Auch der optische Vergleich der Verläufe der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen (vgl. nachfolgende Abbildungen) spiegelt die Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten wider. So ist eine höhere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus der ungetrockneten Emulsion mit dem pH-Wert 4,5 gegenüber der aus der getrockneten Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 zu erkennen.

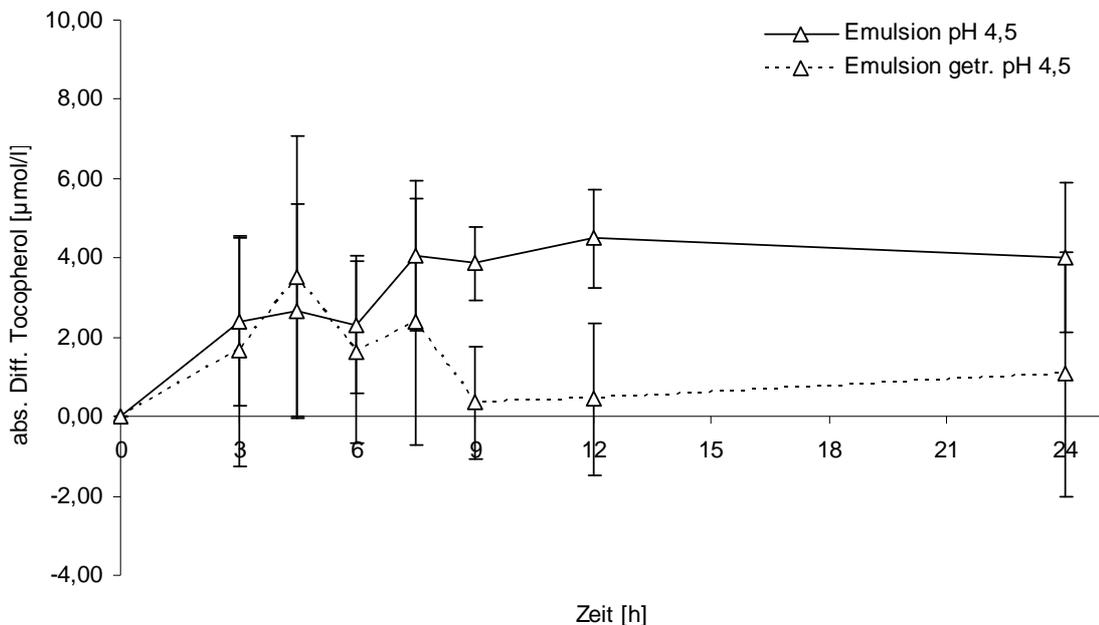


Abbildung 43: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

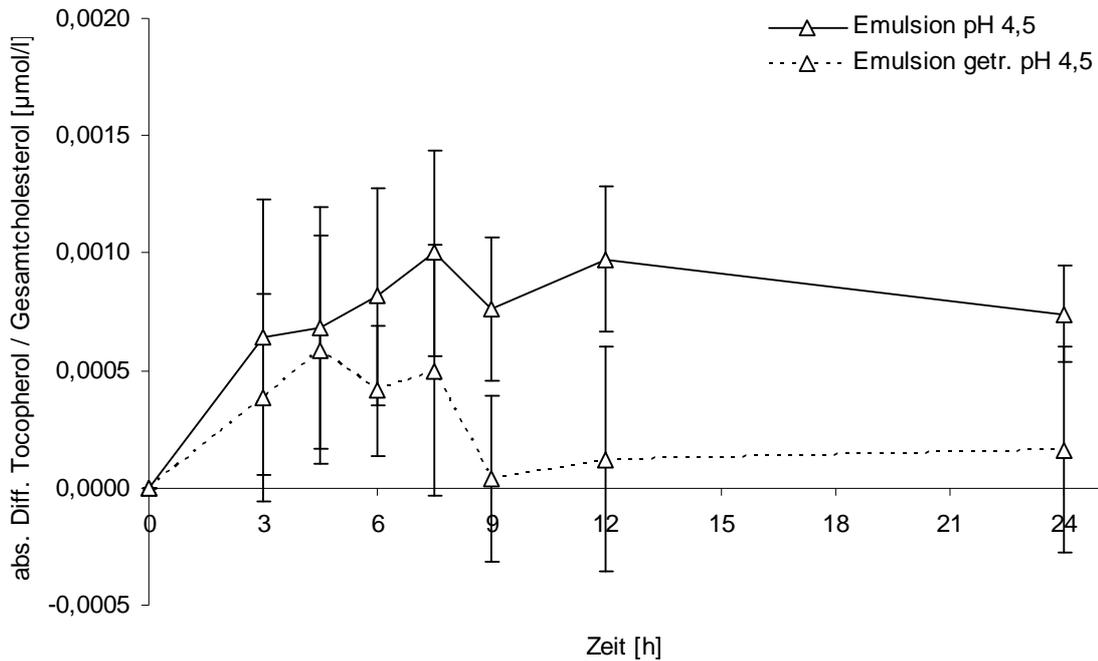


Abbildung 44: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

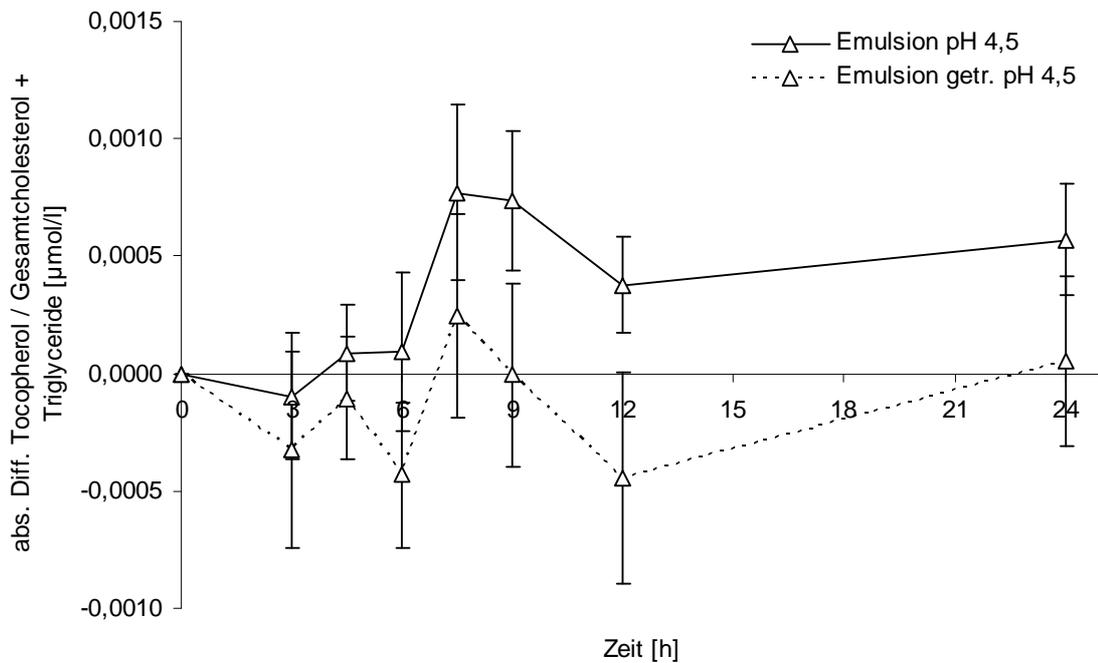


Abbildung 45: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

In den prozentualen Veränderungen der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol nach Verzehr der Prüfprodukte waren keine signifikanten Unterschiede bestimmbar (siehe Tabellen im Anhang).

Gesamtvergleich aller Prüfprodukte der Studienphase IV:

Wie nachfolgende Tabelle 45 zeigt, bestanden zwischen allen vier Prüfprodukten signifikante Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol, gemessen als AUC_{0-24} (AUC_{0-24} (α -Tocopherol), $p=0,024$; AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol), $p=0,006$; AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride), $p=0,006$). Weder bei der maximalen Serumkonzentration (c_{max}) noch bei der Zeit bis zum Erreichen dieser (t_{max}) konnten signifikante Unterschiede zwischen den Prüfprodukten nachgewiesen werden.

Tabelle 45: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, mittlerer Rang) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 6,5; Emulsion pH-Wert 4,5; Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5	pH-Wert 4,5	pH-Wert 6,5 getrocknet	pH-Wert 4,5 getrocknet	p*
AUC_{0-24} (α -Tocopherol)	18,4	22,1	17,3	8,3	0,024
AUC_{0-24} (α -Tocopherol/TC)	18,1	23,1	17,6	7,1	0,006
AUC_{0-24} (α -Tocopherol/TC+TG)	18,6	24,0	15,6	7,8	0,006
c_{max}	13,9	19,8	15,9	16,4	0,660
t_{max}	15,3	16,1	20,7	14,0	0,477

* H-Test nach Kruskal und Wallis für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 6,5, Emulsion pH-Wert 4,5, Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5)

Die optische Beurteilung der Verläufe der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol (vgl. nachfolgende Abbildungen) lässt die Aussage zu, dass das α -Tocopherol aus der getrockneten Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 die geringste Bioverfügbarkeit aufwies.

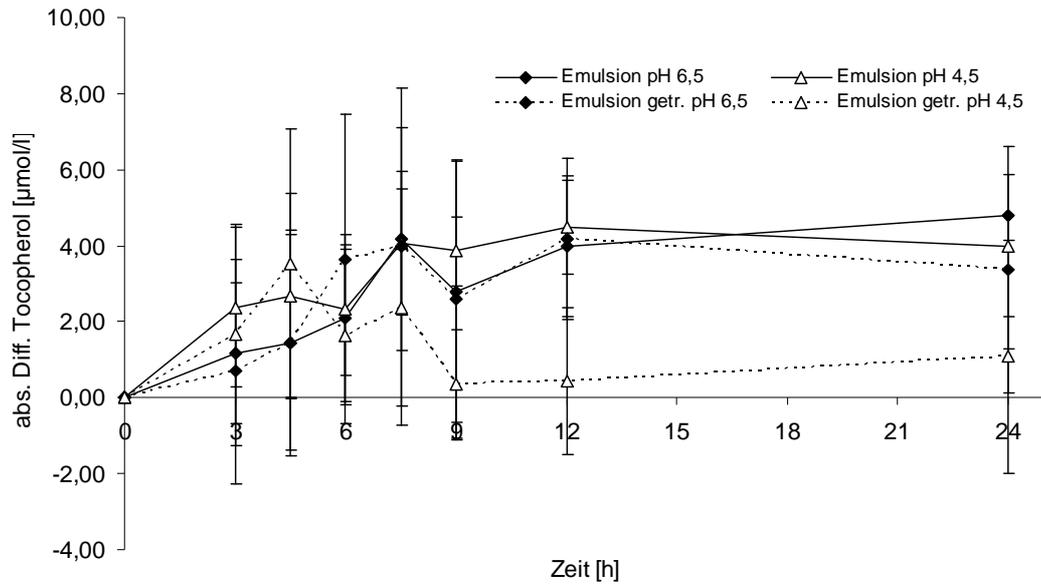


Abbildung 46: α -Tocopherol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5, Emulsion pH-Wert 4,5, Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

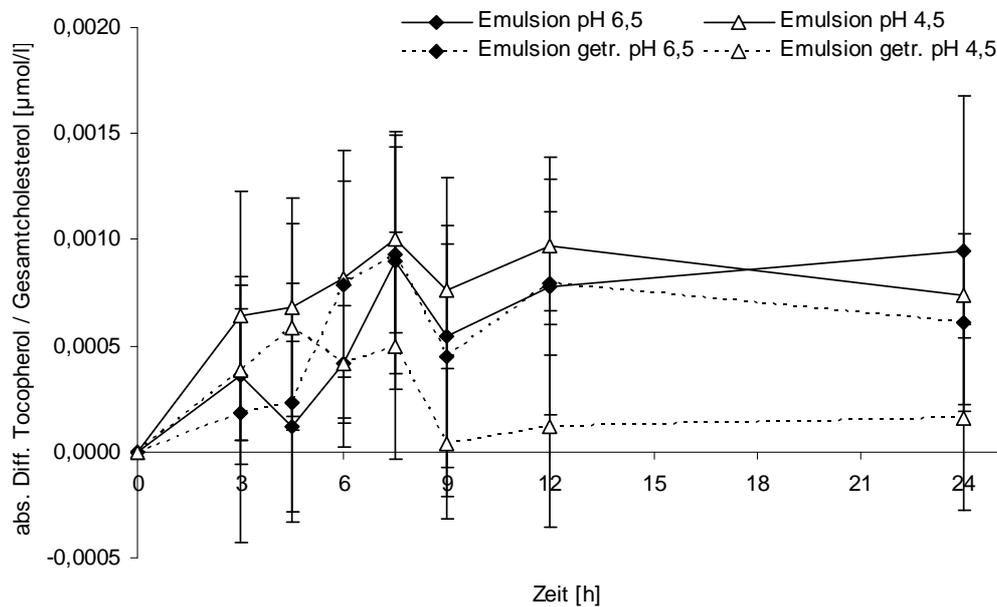


Abbildung 47: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5, Emulsion pH-Wert 4,5, Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

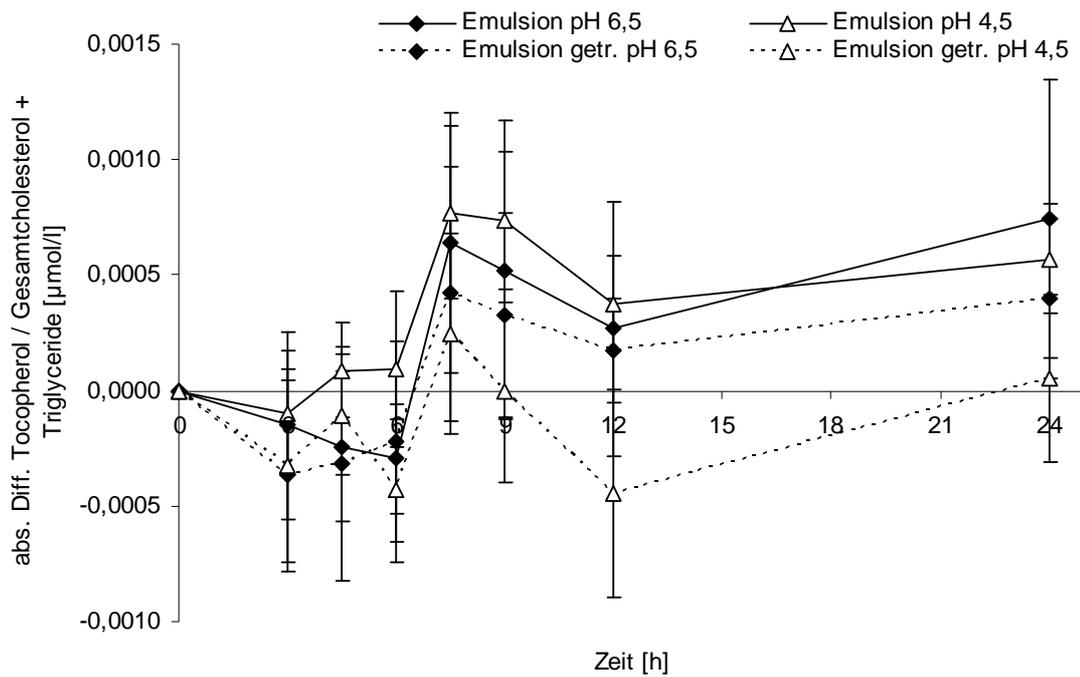


Abbildung 48: α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride-Serumkonzentration der Kollektive Emulsion pH-Wert 6,5, Emulsion pH-Wert 4,5, Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, Mittelwerte \pm Standardabweichung, n=8, Dosis: 60 mg α -Tocopherol

Auch die prozentualen Veränderungen der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol nach Verzehr der Prüfprodukte unterschieden sich nicht signifikant voneinander (siehe Tabellen im Anhang).

5.4.3 Technologische Parameter

In dieser Studienphase wurden nur die getrockneten Emulsionen technologisch charakterisiert.

5.4.3.1 Partikelgrößenverteilung

Tabelle 46: Partikelgrößenverteilung der Prüfprodukte der Studienphase IV mit X_{10} , X_{50} und X_{90} , dem Größenverteilungskoeffizienten (δ) sowie der spezifischen Grenzfläche (GF_0)

Prüfprodukt	X_{10} [μm]	X_{50} [μm]	X_{90} [μm]	δ	GF_0 [m^2/g]
Emulsion pH-Wert 6,5	0,72	2,32	4,94	1,82	4,55
Emulsion pH-Wert 4,5	0,82	2,45	24,96	9,85	3,56

Die Partikelgrößenverteilung zeigte, dass die Emulsion mit dem pH-Wert 6,5 deutlich kleinere Tröpfchen aufwies als die Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5. Andererseits war bei der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 die spezifische Grenzfläche mit 4,55 größer als die der Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 die bei 3,56 lag. Der Größenverteilungskoeffizient war bei der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 kleiner als vier, womit die Emulsion als monodispers einzustufen war und ein relativ schmales Spektrum an Tröpfchengrößen aufwies. Dagegen lag δ mit 9,85 bei der Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 etwa fünffach höher. Diese Emulsion kann deshalb als polydispers bezeichnet werden.

5.4.3.2 Extrahierbarer Fettanteil

Der extrahierbare Fettanteil war sehr unterschiedlich zwischen den Prüfprodukten. So wies die Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 einen etwa 170fach höheren EFA als die Emulsion mit einem pH-Wert von 6,5 auf.

Tabelle 47: Extrahierbarer Fettanteil (EFA) der Prüfprodukte der Studienphase IV als Mittelwert \pm Standardabweichung

Prüfprodukt	EFA [$\text{g}/100 \text{ g Fett}$]
Emulsion pH-Wert 6,5	0,10 \pm 0,04
Emulsion pH-Wert 4,5	16,80 \pm 0,97

5.4.3.3 Oberflächentopographie

Die Struktur der **Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5** war durch eine relativ gleichmäßige Verteilung der Öltröpfen gekennzeichnet. Die Fetttropfen waren relativ klein und eher kugelförmig.

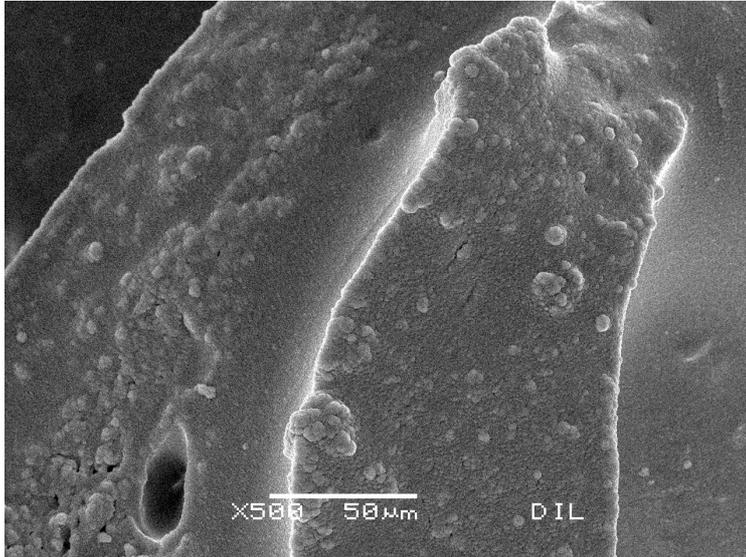


Abbildung 49: Struktur der Emulsion pH-Wert 6,5; Ausschnitt 1, Balken entspricht 50 µm

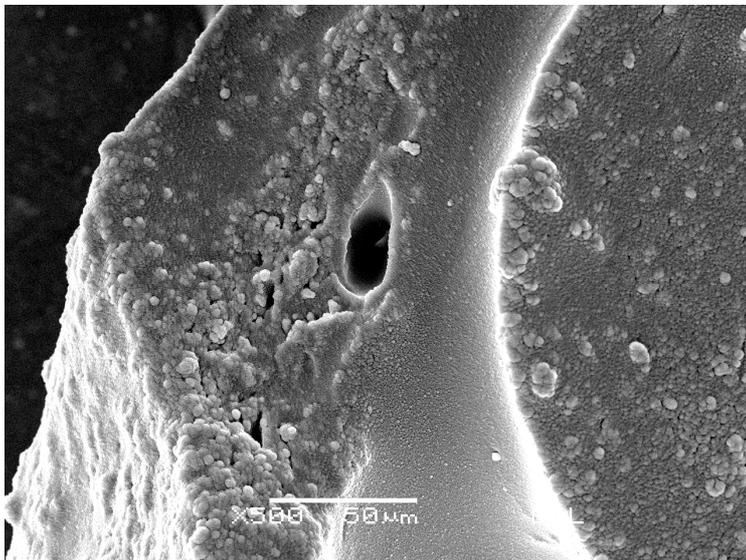


Abbildung 50: Struktur der Emulsion pH-Wert 6,5; Ausschnitt 2, Balken entspricht 50 µm

Die Fetttropfen in der **Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5** waren größer und ungleichmäßig verteilt als die der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5. Sie waren überwiegend zu Clustern zusammengelagert, wobei die einzelnen Fetttropfen nicht direkt aneinander lagen. Die Fetttropfen waren nicht kugelförmig sondern eher ungleichmäßig geformt.

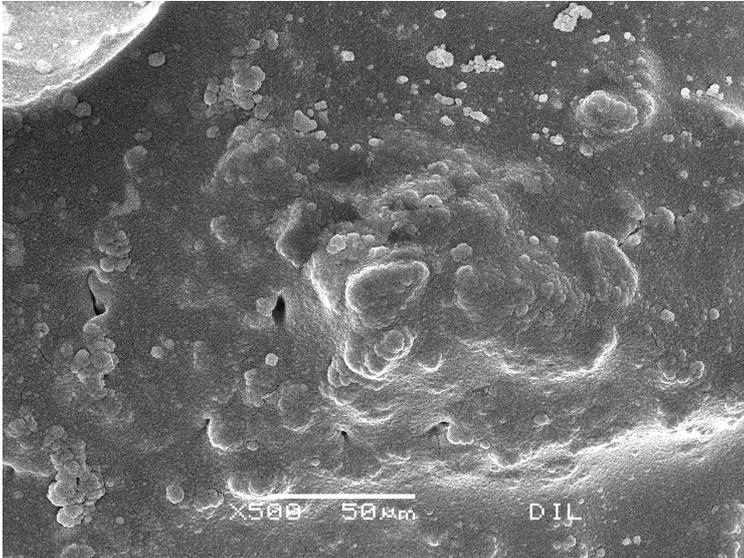


Abbildung 51: Struktur der Emulsion pH-Wert 4,5; Ausschnitt 1, Balken entspricht 50 µm

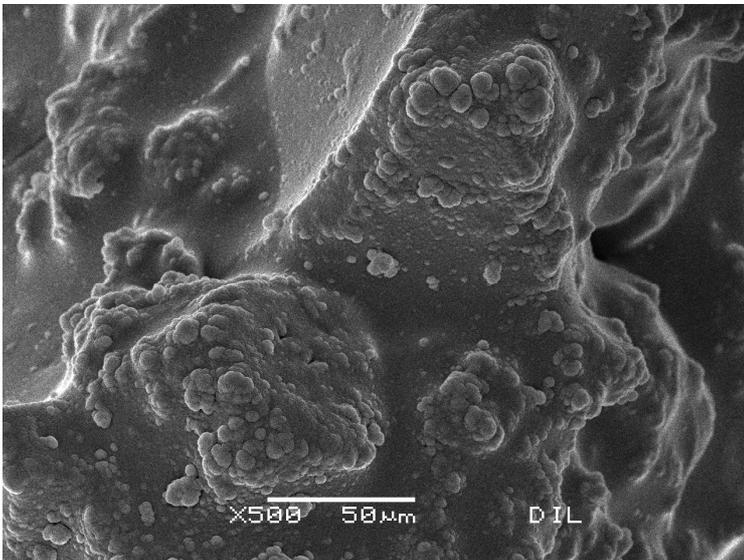


Abbildung 52: Struktur der Emulsion pH-Wert 4,5; Ausschnitt 2, Balken entspricht 50 µm

6 Diskussion

Vitamin E gehört zu den fettlöslichen Vitaminen und ist im menschlichen Stoffwechsel an zahlreichen biochemischen und zellbiologischen Prozessen beteiligt. Eine Zufuhr in Höhe der Empfehlungen ist alimentär nur über die Aufnahme pflanzlicher Fette zu erreichen [Traber und Sies 1996]. In Deutschland ist, gemessen an den Zufuhrempfehlungen, durchschnittlich von einer zu geringen Versorgung der Bevölkerung mit Vitamin E auszugehen [Beitz et al. 2002]. Um einen ausreichenden Versorgungsstatus und darüber hinaus eine für die Prävention ernährungsassoziiierter Erkrankungen ausreichende Zufuhr an Vitamin E zu gewährleisten, können, als Alternative zu Nahrungsergänzungsmitteln, fortifizierte Lebensmittel, die eine hohe Bioverfügbarkeit bestimmter Inhaltsstoffe aufweisen, eingesetzt werden. Es gibt eine Vielzahl von Einflussfaktoren auf die Höhe der Bioverfügbarkeit von Vitamin E, so dass nicht jede Lebensmittelmatrix geeignet ist, um ein fortifiziertes Lebensmittel herzustellen, das eine hohe Bioverfügbarkeit an α -Tocopherol garantieren kann [Borel 2003; Lodge et al. 2004].

In dieser Arbeit sollten mit α -Tocopherol angereicherte Lebensmittel technologisch so entwickelt und optimiert werden, dass das enthaltene α -Tocopherol eine möglichst hohe Bioverfügbarkeit aufweist. Aufgrund dieser Fragestellung ergaben sich mehrere Studienphasen, in denen jeweils die Prüfprodukte auf Basis der Daten der vorhergehenden Studienphasen lebensmitteltechnologisch modifiziert und die Verfügbarkeit von α -Tocopherol mittels Biokinetikuntersuchungen bestimmt wurden. Darüber hinaus sollte der Frage nachgegangen werden, inwieweit die technologischen Charakteristika der Lebensmittelmatrizes Rückschlüsse auf die Bioverfügbarkeit von fettlöslichen Substanzen aus Emulsionen zulassen. Diese vergleichende Analyse wurde im Rahmen dieser Arbeit erstmals für Vitamin E durchgeführt, so dass praktisch keine entsprechende Literatur zum Vergleich herangezogen werden konnte.

Nachfolgend wird zunächst das vorliegende Studiendesign im Hinblick auf die Auswahl der Methoden sowie der Kollektive und deren Vergleichbarkeit mit Studien, die dem Design der vorliegenden Untersuchungen entsprechen, bewertet. In der nachfolgenden Diskussion der einzelnen Studienphasen soll anhand der erhaltenen Daten herausgestellt werden, ob die theoretischen Zusammenhänge zwischen den technologischen und biokinetischen Parametern anhand unserer Daten bestätigt werden konnten. Abschließend werden alle Beurteilungen zu den einzelnen Studienphasen insgesamt bezüglich der Aussagekraft hinsichtlich der Fragestellung dieser Arbeit ausführlich diskutiert (vgl. Kapitel 6.3).

6.1 Methodische Gesichtspunkte

Um mittels Biokinetikuntersuchungen aussagefähige und -kräftige Ergebnisse zu erhalten, müssen unerwünschte Einflüsse auf die Bioverfügbarkeit vorab möglichst ausgeschlossen werden. Dazu mussten die Beeinflussung durch endogene und exogene Faktoren minimiert und die Bioverfügbarkeit mittels geeigneter biokinetischer Parameter bestimmt werden. Vornehmliches Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mögliche Effekte der Lebensmittelmatrix auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten zu untersuchen. Nachfolgend wird diskutiert, inwieweit Einflussfaktoren minimiert werden konnten und ob das vorliegende Studiendesign mit dem anderer Studien mit entsprechender Fragestellung vergleichbar ist. Darüber hinaus sollte erstmals eine mögliche Korrelation zwischen der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol und den technologischen Charakteristika der Prüfprodukte überprüft werden. Daher gilt es zu ermessen, inwieweit die eingesetzten analytischen Parameter geeignet waren, Aussagen hinsichtlich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüflebensmitteln abzuleiten.

Zum Vergleich mit den hier durchgeführten Studien werden bereits publizierte Untersuchungen herangezogen, in denen ebenfalls die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol untersucht wurde. Bisher wurden praktisch keine Untersuchungen veröffentlicht, die ebenfalls die Absorption von α -Tocopherol aus angereicherten Lebensmitteln analysiert haben (vgl. Kapitel 2.6 und Tabelle 6). Lediglich zwei Biokinetikstudien haben die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus fortifizierten Äpfeln bzw. aus angereicherter Margarine bestimmt [Bruno et al. 2006; van het Hof et al. 1998]. Diese Lebensmittel waren allerdings nicht mit den hier eingesetzten Prüfprodukten (Frischkäse, Mayonnaise, Pudding) vergleichbar.

6.1.1 Endogene Einflussfaktoren

Es ist bekannt, dass die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol durch zahlreiche endogene Faktoren beeinflusst wird [Lodge 2005, Borel 2003]. Zu den endogenen Effektoren der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zählen:

- Geschlecht
- Alter
- Rauchen
- Anthropometrische Daten
- Versorgungsstatus Vitamin E bzw. α -Tocopherol
- Plasmalipidprofil

Geschlecht

Bei Frauen besteht die Möglichkeit, dass sich im Gegensatz zu Männern zyklusbedingte Schwankungen der Serumspiegel von α -Tocopherol und der Lipide einstellen [Horwitt et al. 1975]. Um diese ausschließen zu können, wurden nur Männer in die durchgeführten Kurzzeitkinetiken (Ausnahme Studienphase II Langzeitkinetik) eingeschlossen. In drei zum Vergleich herangezogenen Kurzzeitkinetik-Untersuchungen wurden ebenfalls nur Männer untersucht [Borel et al. 2001; Jeanes et al. 2005; Reboul et al. 2007], während in den weiteren zehn Untersuchungen sowohl Männer als auch Frauen eingeschlossen wurden [Bruno et al. 2006; Cheeseman et al. 1995; Dimitrov et al. 1991; Fairus et al. 2006; Hall et al. 2005; Herrero-Barbudi et al. 2006; Jeanes et al. 2004b; Leonard et al. 2004; Traber et al. 1998; Wajda et al. 2007]. Auch wenn der Vergleich mit anderen Studien zeigt, dass sowohl männliche als auch weibliche Studienteilnehmer in eine Biokinetik eingeschlossen wurden, scheint eine Beschränkung auf männliche Studienteilnehmer dennoch sinnvoll zu sein, um die genannten Einflüsse zu minimieren.

Alter

Der α -Tocopherol-Status verändert sich im Laufe des Heranwachsens, bleibt dann zunächst im Erwachsenenalter relativ konstant, um dann im höheren Alter, bedingt durch eine vermehrte Produktion freier Radikale während des Alterungsprozess, noch einmal anzusteigen [Combs 2008, S. 187, 196f]. Daher wurden die Studienteilnehmer aus einer relativ begrenzten Alterspanne (20-40 Jahre) rekrutiert, um die gegebenenfalls durch das Alter verursachten interindividuellen Schwankungen weitestgehend gering zu halten. Das Alter des Kollektivs lag durchschnittlich zwischen 26,3 und 32,0 Jahren (Studienphase III und II). Damit stimmte es mit dem Alter der Teilnehmer von Studien mit vergleichbarer Fragestellung überein, das durchschnittlich etwa 37,3 Jahre (Spanne: 21,5-50,9 Jahre [Hayes et al. 2001; Öhrvall et al. 2001]) betrug.

Rauchen

Ein weiterer endogener Einflussfaktor ist das Rauchen. Raucher sind einem verstärktem oxidativen Stress ausgesetzt und weisen erhöhte Konzentrationen an Produkten der Lipidperoxidation auf [Morrow et al. 1995]. Aufgrund seiner Funktion als Antioxidans haben Raucher daher niedrigere Plasmaspiegel an Vitamin E als Nichtraucher [van den Berg et al. 2002]. Um diesen potentiellen Störfaktor auszuschließen, wurden in die hier durchgeführten Untersuchungen ausschließlich Nichtraucher eingeschlossen. Bei den vergleichbaren Biokinetikstudien wurde Rauchen nicht als Ausschlussfaktor definiert.

Dennoch sollten Raucher nicht in die Untersuchung eingeschlossen werden, um das Studienkollektiv dahingehend weitestgehend zu standardisieren.

Anthropometrische Daten

Die Verteilung von Vitamin E im Körper erfolgt über die Lipoproteine im Blut und steht daher in engem Zusammenhang mit diesen (vgl. Kapitel 2.3.2). Die Konzentration der Lipoproteine wiederum korreliert mit dem Körpergewicht bzw. dem BMI. Insbesondere besteht ein linearer Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht und den VLDL- sowie LDL-Spiegeln und eine inverse Korrelation zu den HDL-Konzentrationen [Lamon-Fava et al. 1996]. In unseren Untersuchungen wurden die anthropometrischen Daten jeweils nur zum ersten Untersuchungstag bestimmt, womit eine durch eine Änderung des Körpergewichts über die Zeit bedingte Beeinflussung der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol nicht ausgeschlossen werden konnte. Das Körpergewicht der Probanden sollte sich jedoch innerhalb der Untersuchungszeiträume (drei bzw. vier Wochen (Studienphase IV)) nicht in dem Umfang ändern, dass dadurch eine Beeinflussung der Lipidprofile eingetroffen wäre. Ein Effekt auf das Lipidprofil über eine Änderung des Körpergewichts würde sich nur bei starken Veränderungen des Körpergewichts und bei längeren Zeiträumen als den hier vorliegenden bemerkbar machen [NCEP 2002]. Somit ist trotz der unvollständigen Bestimmung der anthropometrischen Daten die Vergleichbarkeit der Studientage gegeben. Dennoch sollten in nachfolgenden Untersuchungen, zur Gewährleistung der absoluten Vergleichbarkeit, zu jedem Untersuchungstag die anthropometrischen Daten erhoben werden.

Versorgungsstatus Vitamin E bzw. α -Tocopherol

Der Versorgungsstatus an α -Tocopherol beeinflusst dessen Metabolismus in Bezug auf die Menge an α -Tocopherol die in den Blutkreislauf eingeschleust und das α -Tocopherol welches direkt wieder ausgeschieden wird. Dies liegt darin begründet, dass α -Tocopherol in der Leber an ein α -Tocopherol-spezifisches Transportprotein (TTP) bindet, welches α -Tocopherol zusammen mit den VLDL ins Plasma sezerniert [Cohn et al. 1988]. α -Tocopherol induziert dabei selbst die Expression der TTP-RNA [Fechner et al. 1998]. Somit wird bei einer vermehrten Aufnahme von α -Tocopherol anteilig mehr α -Tocopherol in den Blutkreislauf abgegeben. Ziel einer Biokinetikuntersuchung mit α -Tocopherol sollte es daher sein zum einen den Verzehr von Vitamin E zu vermindern und zum anderen die α -Tocopherol-Serumkonzentrationen zu senken. Daher wurde in der vorliegenden Untersuchung eine zweiwöchige Depletion durchgeführt, in der die Studienteilnehmer auf Vitamin-E-reiche Nahrungsmittel verzichten sollten. Damit sollte eine Verminderung sowie

eine relative Vereinheitlichung der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen erreicht werden, so dass Einflüsse durch die Expression des TTP minimiert werden konnten.

Die wichtigste physiologische Funktion von α -Tocopherol ist seine antioxidative Wirkung. Bei diesen Reaktionen entsteht ein α -Tocopheroxylradikal, das unter physiologischen Bedingungen reaktionsträge ist und mit Hilfe von Vitamin C (Ascorbat) bzw. Coenzym Q₁₀ regeneriert wird [Brigelius-Flohé und Traber 1999; Itoh et al. 2008]. Die dabei entstehenden Ascorbat- bzw. Coenzym-Q₁₀-Radikale werden wiederum mittels selenhaltigen Glutathion-Reduktasen regeneriert [Amorati et al. 2002; MacCay 1985]. Somit wird die Höhe der α -Tocopherol-Serumspiegel auch von den Serumkonzentrationen von Ascorbat, Coenzym Q₁₀ und Selen beeinflusst. Daher nahmen die Studienteilnehmer neben der Depletion von Vitamin E zusätzlich täglich 100 mg Vitamin C ein, um den Einfluss individueller Regenerationsraten auf die α -Tocopherol-Serumspiegel zu minimieren.

Die mittleren Nüchternserumkonzentrationen von α -Tocopherol lagen in den hier vorliegenden Studienkollektiven zwischen $22,1 \pm 4,5 \mu\text{mol/l}$ und $29,3 \pm 6,8 \mu\text{mol/l}$ (Studienphase II und IV). Damit entsprachen sie den Serumkonzentrationen der Vergleichsstudien, die im Durchschnitt Serumspiegel von $27,5 \mu\text{mol/l}$ (Spanne: $10,2$ - $38,8 \mu\text{mol/l}$ [Fairus et al. 2006; Hall et al. 2005]) aufwiesen. In drei dieser Studien wurde ebenfalls eine Depletion vorab durchgeführt. Die durchschnittlichen α -Tocopherol-Spiegel der Studienkollektive lagen mit $20,8 \pm 2,9 \mu\text{mol/l}$; $21,1 \pm 6,6 \mu\text{mol/l}$ (Depletion über 6 Monate); $24,4 \pm 4,1 \mu\text{mol/l}$ (Depletion über 24 h); $25,1 \pm 2,1 \mu\text{mol/l}$ und $24,4 \pm 2,2 \mu\text{mol/l}$ (Depletion über 2 h) [Bruno et al. 2006; Herrero-Barbudi 2006; Roodenburg et al. 2000] im Bereich unserer Studienphasen genauso wie in den Bereichen der Vergleichsstudien, die keine Depletion vorab durchgeführt haben. Damit führte auch eine längerfristige Depletionsphase von über sechs Monaten nicht zu einer bedeutsamen Senkung der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen und erscheint also nicht zielführend, um die Nüchternserum- α -Tocopherol-Konzentrationen zu senken.

Zusammengefasst scheint weder eine zweiwöchige Depletion von Vitamin E noch die Einnahme von Vitamin C einen entscheidenden Einfluss auf die Serumkonzentrationen von α -Tocopherol auszuüben. Für Vitamin E ist im Körper kein explizites Speicherorgan vorhanden und es unterliegt einer ständigen Metabolisierung sowie einem laufenden Transport zwischen den Organen [Lodge 2005]. Daher führt eine Depletion, wie in den vorliegenden Untersuchungen von zwei Wochen oder wie in den Vergleichsstudien von sechs Monaten, zu keinem Abfall der Serumspiegel. Denkbar wäre eine längerdauernde Depletion von mehr als sechs Monaten, die allerdings in der Praxis schwer realisierbar wäre, da Vitamin E vor allem in pflanzlichen Ölen enthalten ist und so ubiquitär in den Lebensmitteln vorliegt. Allerdings sollte eine Depletion trotzdem durchgeführt werden, um

stark erhöhte Serumkonzentrationen von Studienteilnehmern durch eine unmittelbare und sehr große Zufuhr von Vitamin E sowie eine akute Expression des TTP zu vermeiden. Eine Einnahme von Vitamin C ist ebenfalls zu empfehlen, damit individuell unterschiedliche Regenerationsraten vermieden werden. Mit Hilfe dieser Maßnahmen sollten relativ einheitliche Serumkonzentrationen erreicht werden können.

Plasmalipidprofil

Der Metabolismus von α -Tocopherol ist eng mit dem Lipoproteinstoffwechsel verknüpft, so dass der Plasmalipidstatus die Höhe der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen beeinflusst. Vor allem Hypercholesterolämien und Hypertriacylglyceridämien führen zu erhöhten Vitamin-E-Plasmaspiegeln [Hall et al. 2005; van Tits et al. 2000; Leonhardt et al. 1999; Muldoon et al. 1996]. Um diese Störfaktoren zu minimieren, wurden in unseren Untersuchungen die individuellen Werte zu Mittelwerten zusammengefasst, wodurch die interindividuellen Unterschiede ausgeglichen werden konnten. Zusätzlich wurde bedingt durch das Cross-over-Design der Untersuchungen dasselbe Kollektiv mit denselben genetischen und körperlichen Bedingungen untersucht und die einzelnen Untersuchungstage miteinander verglichen. Somit stellte jeder Teilnehmer seine eigene Kontrolle dar, was ebenfalls zu einem Ausgleich der individuellen Unterschiede führte. Des Weiteren wurden über den Screening-Fragebogen bekannte Lipidstoffwechsel-Erkrankungen vorab erfragt, konnten jedoch nicht ausgeschlossen werden, da diese Erkrankungen oft nicht erkannt werden oder noch nicht vom Arzt diagnostiziert wurden.

Die Lipidprofile der vorliegenden Kollektive der einzelnen Studienphasen entsprachen denen der zum Vergleich herangezogenen Studien. So lagen die Gesamtcholesterol-Spiegel der Vergleichsstudien bei durchschnittlich 5,2 mmol/l (Spanne: 3,5 -7,3 mmol/l [Hayes et al. 2001; Proteggente et al. 2005]) und die der hier vorliegenden Studienphasen zwischen $4,5 \pm 0,6$ und $5,4 \pm 1,0$ mmol/l (Studienphase I und III). Die LDL-Cholesterolspiegel der Vergleichsstudien lagen im Mittel bei 3,1 mmol/l (Spanne: $1,6 \pm 4,7$ mmol/l [Öhrvall et al. 2001; Traber et al. 1998]) und die unserer einzelnen Studienphasen zwischen $2,6 \pm 1,1$ und $3,3 \pm 0,8$ mmol/l (Studienphase II und III). Auch die HDL-Cholesterol- und die Triacylglycerid-Konzentrationen waren vergleichbar. Erstere lagen in unseren Studienkollektiven zwischen $1,3 \pm 0,3$ und $1,7 \pm 0,4$ mmol/l (Studienphase III und II) und in den Vergleichsstudien bei durchschnittlich 1,2 mmol/l (Spanne: 0,8-1,7 mmol/l [Fairus et al. 2006; Traber et al. 1998]). Die Triacylglycerid-Spiegel lagen in unseren Studienphasen zwischen $1,0 \pm 0,6$ und $1,8 \pm 0,9$ mmol/l (Studienphase I und III) und in den zum Vergleich herangezogenen Studien durchschnittlich bei 1,3 mmol/l (Spanne: 0,4-2,3 mmol/l [Hall et al. 2005; Traber et al. 1998]). Damit können die hier vorliegenden

Studienkollektive als vergleichbar mit denen anderer Studien mit ähnlicher Fragestellung eingestuft werden.

Zur Verbesserung des vorliegenden Studiendesigns könnte ein Screening der Studienteilnehmer durchgeführt werden. Dafür sollte der Lipidstatus der potentiellen Probanden vorab erfasst werden, um anschließend nur Teilnehmer mit einem als normal einzustufenden und relativ einheitlichen Lipidprofil in die Studie einzuschließen. So könnten große individuelle Schwankungen der Cholesterol- und Triacylglycerid-Konzentrationen und ein damit möglicherweise verbundener Einfluss auf die Absorption von α -Tocopherol vermieden werden. Von den zum Vergleich herangezogenen Studien haben vier vorab das Plasmalipidprofil bestimmt bzw. obere Grenzwerte für die Cholesterol- und Triacylglycerid-Konzentrationen der Studienteilnehmer festgelegt [Borel et al. 2001; Hall et al. 2005; Jeanes et al. 2004b; Jeanes et al. 2005]. In diesen Studien ergaben sich allerdings, trotz vorherigem Screening der Teilnehmer, keine kleineren Standardabweichungen für die Cholesterol- und Triacylglyceridspiegel als in den weiteren Studien [Bruno et al. 2006; Cheeseman et al. 1995; Dimitrov et al. 1991; Fairus et al. 2006; Hayes et al. 2001; Herrero-Barbudi et al. 2006; Leonard et al. 2004; Öhrvall et al. 2001; Proteggente et al. 2005; Proteggente et al. 2006; Reboul et al. 2007; Roodenburg et al. 2000; Traber et al. 1998; van het Hof et al. 1998; Wajda et al. 2007]. Ein Screening scheint somit nicht unbedingt notwendig zur Ermittlung der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zu sein.

6.1.2 Exogene Einflussfaktoren

Neben den endogenen Einflussfaktoren kann die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol auch von exogenen Störfaktoren beeinflusst werden. Zu diesen zählen:

- Studiendesign
- Untersuchungsdauer
- Kollektivgröße
- Lebensmittelmatrix
- Dosierung von α -Tocopherol
- Portionsgröße des Prüfprodukts
- Standardisierung der Mahlzeiten und Getränke

Studiendesign

Die vorliegenden Kurzzeitkinetik-Untersuchungen wurden im Cross-over-Design durchgeführt. Dieses Vorgehen dient dem Ausschließen von falschen Effekten durch eine Heterogenität des Studienkollektivs. Mit diesem Studiendesign kann davon ausgegangen werden, dass Unterschiede in der Bioverfügbarkeit tatsächlich durch die Matrix bedingt sind und nicht von individuellen Unterschieden herrühren [Steinijans und Diletti 1983]. Bei einer Cross-over-Untersuchung bekommt jeder Teilnehmer einmalig jedes der zu untersuchenden Produkte, um individuelle Unterschiede in der Bioverfügbarkeit auszugleichen. Jeder Proband dient somit als seine eigene Kontrolle. Dennoch können Unterschiede in der Bioverfügbarkeit bestimmter Substanzen von einem Tag zum nächsten auftreten. Speziell in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol bestehen interindividuelle Unterschiede zwischen einzelnen Personen [Döring et al. 2004; Dimitrov et al. 1991]. Allerdings sind trotz der interindividuellen Schwankungen die Bioverfügbarkeitsraten intraindividuell konstant [Jeanes et al. 2005], so können Unterschiede in der Absorption von α -Tocopherol zwischen den Tagen ausgeschlossen werden. Das Cross-over-Design ist die vornehmliche Wahl bei der Durchführung einer Biokinetik unter der Voraussetzung, dass die Studienbedingungen standardisiert sind, was in unseren Untersuchungen gegeben ist. Über das gewählte Studiendesign konnten interindividuelle Unterschiede eliminiert werden, womit ein Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol über diese Variabilität reduziert wurde.

In der Langzeitkinetik-Studie der Studienphase II wurde kein Cross-over-Design gewählt, sondern es wurden zwei Studienkollektive im Gruppenvergleich gegenübergestellt. Ein Grundvoraussetzung für die Vergleichbarkeit der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den verschiedenen Prüfprodukten war daher, dass keine Unterschiede zwischen den Kollektiven bestanden, was sowohl in Bezug auf die anthropometrischen als auch auf die biochemischen Parameter zutraf (vgl. Ergebnisse Kapitel 5.2.2.1). Darüber hinaus wurden mehr Teilnehmer in die Untersuchung eingeschlossen als in vergleichbaren Studien (vgl. Kapitel 6.1.2, Abschnitt Kollektivgröße), womit ein Gruppenvergleich anstelle eines Cross-over-Designs im vorliegenden Fall als für die vorliegende Fragestellung geeignet bewertet werden kann.

Untersuchungsdauer

Bei der Festlegung der Dauer einer Bioverfügbarkeits-Untersuchung müssen die folgenden Punkte beachtet werden [Niazi 2007, S. 8ff]. Zunächst sollte in dem untersuchten Zeitraum die verabreichte Menge der Substanz nach Möglichkeit absorbiert und metabolisiert werden können. In dem hier beobachteten Zeitraum von 24 h konnte das

α -Tocopherol vollständig absorbiert und teilweise metabolisiert werden [Clifford et al. 2006; Wolf 2007]. Des Weiteren sollte der Zeitraum so gewählt werden, dass der Hauptanteil der verabreichten Substanz bereits aus dem Blutkreislauf verschwunden ist und somit die Serumkonzentrationen nahe dem Ausgangswert sind. Für Vitamin E ist im Körper kein explizites Speicherorgan vorhanden und es unterliegt einer ständigen Metabolisierung sowie einem laufenden Transport zwischen den Organen [Lodge 2005], so dass immer ein gewisser Basalwert im Serum nachweisbar ist. Daher war keine vollständige Elimination aus dem Serum innerhalb des Untersuchungszeitraums zu erwarten. Darüber hinaus sollte der Untersuchungszeitraum dem von Studien mit entsprechender Fragestellung entsprechen, um Vergleiche ziehen und gültige Aussagen treffen zu können. Dies ist in den vorliegenden Kurzzeitkinetik-Untersuchungen mit einem Untersuchungszeitraum von 24 h und auch mit der durchschnittlichen Dauer der Vergleichsstudien von 36 h (Spanne: 4-96 h [Borel et al. 2001; Traber et al. 1998]) gegeben.

Kollektivgröße

Bedingt durch das Cross-over-Studiendesign konnte der Stichprobenumfang reduziert werden, da interindividuelle Unterschiede eliminiert wurden (vgl. Kapitel 6.1.2, Abschnitt Studiendesign). Die geringe Studienteilnehmerzahl unserer Studienphasen stellte somit keine Einschränkung der Aussagekraft der Ergebnisse dar. Grundsätzlich können bereits bei einer Kollektivgröße von drei Personen statistisch relevante Berechnungen bei Cross-over-Studien durchgeführt werden [Kiene 2007]. In den vorliegenden Kurzzeitkinetiken waren die Teilnehmerzahlen mit $n=5$ (Studienphase I und II), $n=7$ (Studienphase III) und $n=8$ (Studienphase IV) geringer als die der Vergleichsstudien, in welchen durchschnittlich zehn Teilnehmer (Spanne: 3-25 [Dimitrov et al. 1991; Hall et al. 2005]) untersucht wurden. Dennoch sind, aus den genannten Gründen, die von uns gewählten Teilnehmerzahlen als zweckmäßig für Cross-over-Studien zu bewerten.

In der hier durchgeführten Langzeitkinetik der Studienphase II wurden insgesamt 21 Personen (10 Männer, 11 Frauen) untersucht. Damit entsprach die Größe des Studienkollektivs unserer Langzeitkinetik dem vergleichbarer Untersuchungen, die ebenfalls über 28 Tage durchgeführt wurden. Bei diesen lag die geringste Teilnehmerzahl bei acht [Dimitrov et al. 1991; Hayes et al. 2001] und die höchste bei 31 Personen [van het Hof et al. 1998], während die meisten Studien etwa 14-20 Personen in die Studien einschlossen [Dimitrov et al. 1991; Öhrvall et al. 2001; Proteggente et al. 2006; Roodenburg et al. 2000].

Lebensmittelmatrix

Grundsätzlich kann die Lebensmittelmatrix ein Störfaktor bei der Untersuchung der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus angereicherten Lebensmitteln sein [Steinijans und Diletti 1983]. Eine mögliche Variabilität der Prüfprodukte sollte vermieden werden, indem die Prüfprodukte an den einzelnen Untersuchungstagen hinsichtlich ihrer Zusammensetzung, der Formulierung und der Darreichungsform identisch waren. Die Prüfprodukte wurden jeweils am Vortag der Untersuchungstage unter standardisierten Bedingungen im Deutschen Institut für Lebensmitteltechnik e.V. hergestellt, portionsweise verpackt und gekühlt zum Studienort transportiert. Somit waren die Prüfprodukte soweit standardisiert, dass nur über die unterschiedliche Lebensmittelmatrix ein Effekt auf die Höhe der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zu erwarten war. In der derzeitigen Literatur findet sich keine Untersuchung, in der die von uns ausgewählten Lebensmittel mit α -Tocopherol oder anderen fettlöslichen Substanzen angereichert wurden. Lediglich eine Forschungsarbeit hat Milchprodukte mit Fettsäuren und konjugierter Linolsäure angereichert, bei diesen jedoch nur die Fettsäuregehalte und die Verluste an Fettsäuren durch eine Lagerung bestimmt [Rodríguez-Alcalá und Fontecha 2007].

Die in den Studien eingesetzten Prüfprodukte wiesen aufgrund der jeweiligen Rezepturen unterschiedliche Fettgehalte auf (vgl. Kapitel 4.1.6). Um die gleichen Vorraussetzungen zur Absorption der implizierten Menge an α -Tocopherol zu erreichen, wurden daher die Portionsgrößen der einzelnen Prüfprodukte so gewählt, dass jede Portion die gleiche Menge an Fett enthielt. Jede Portion des Prüflebensmittels wurde mit jeweils 60 mg α -Tocopherol angereichert. Somit wichen die Portionsgrößen der verschiedenen Prüfprodukte voneinander ab; über den standardisierten Fettgehalt pro Portion konnte jedoch ein Einfluss über den Fettgehalt der Matrix ausgeschlossen werden.

Dosierung von α -Tocopherol

Die Höhe der Absorption von α -Tocopherol steht in linearer Beziehung zu der verabreichten Dosis, wobei die Absorptionsrate ab einer gewissen Dosis konstant auf einem Niveau bleibt [Hoppe und Kennrich 2000]. Somit sollte eine Dosierung von α -Tocopherol gewählt werden, bei der eine größtmögliche Absorptionsrate garantiert werden kann. Dies scheint, mit den hier gewählten 60 mg RRR- α -Tocopherol pro Portion gegeben zu sein. In einer Kinetik über 96 h stiegen die Plasmaspiegel signifikant ($p < 0,001$) mit der verabreichten Dosis (15 mg, 75 mg und 150 mg RRR- α -Tocopheryl-Acetat) an [Traber et al. 1998a]. Damit lag unsere Dosierung von 60 mg α -Tocopherol im mittleren Bereich der genannten Untersuchung, womit eine ausreichende Höhe der Absorption gewährleistet

sein sollte und ein Einfluss auf die Bioverfügbarkeit im Prinzip ausgeschlossen werden konnte.

Die Dosierung von 60 mg α -Tocopherol der hier durchgeführten Kurzzeitkinetik-Studien lag größtenteils unter den Dosierungen anderer Kurzzeitkinetiken. So wurden in Untersuchungen die ebenfalls über 24 h durchgeführt wurden 440 mg, 880 mg sowie 1320 mg verabreicht [Dimitrov et al. 1991]. Die relativ geringe Dosierung von α -Tocopherol lag in der Fragestellung dieser Arbeit begründet, da Lebensmittel des täglichen Verzehrs mit einer physiologischen Menge an α -Tocopherol angereichert werden sollten. Die Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung für eine angemessene tägliche Zufuhr liegt für erwachsene Männer (19-51 Jahre) bei 14-15 mg und für Frauen bei 12 mg RRR- α -Tocopherol [Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al. 2000, S. 87]. Die hier verabreichte Menge von 60 mg entspricht etwa der vierfachen Menge der empfohlenen täglichen Zufuhr. Diese Menge wurde in den Kurzzeitkinetik-Untersuchungen an einem Tag pro Woche verabreicht, womit im Durchschnitt die empfohlene tägliche Zufuhr erreicht wurde. Damit wurden die Prüfprodukte, der Fragestellung der Arbeit entsprechend, mit einer physiologischen Menge an α -Tocopherol angereichert.

Ein weiterer Aspekt, der bei der Dosierung des α -Tocopherols zu beachten ist, ist die mögliche Toxizität. Bei der hier gewählten Dosierung von 60 mg α -Tocopherol waren keine Nebenwirkungen bedingt durch eine Überdosierung zu erwarten. Vitamin E kommt natürlicherweise in Lebensmitteln vor. Die in den Prüflebensmitteln enthaltene Menge von 60 mg α -Tocopherol entspricht etwa 200 g Mandeln bzw. Haselnüssen, 100 g Sonnenblumenöl oder 200 g Maiskeimöl [Souci et al. 2008]. Mit der verabreichten Menge von 60 mg α -Tocopherol pro Woche wurde im Durchschnitt die empfohlene tägliche Zufuhr erreicht und lag damit nicht in einem möglichen toxischen Bereich. Auch in der Langzeitkinetik-Studie der Studienphase II waren trotz einer chronischen Zufuhr von 60 mg α -Tocopherol/Tag über vier Wochen, keine Nebenwirkungen zu erwarten. Der Tolerable Upper Intake Level (UL), der nach den Dietary Reference Intakes definiert ist als höchste tägliche Zufuhr eines Nahrungsbestandteils, die bei dauerhafter Zufuhr keinen gesundheitlich nachteiligen Einfluss auf die Gesamtbevölkerung hat, liegt für Erwachsene für α -Tocopherol bei 1000 mg/Tag [Food and Nutrition Board 2000, S. 249ff].

Die Dosierung unserer Langzeituntersuchung der Studienphase II war mit 60 mg α -Tocopherol pro Tag niedriger als die verabreichten Mengen von 200-1320 mg α -Tocopherol in den vergleichbaren Langzeitkinetik-Untersuchungen über 28 Tage [Dimitrov et al. 1991; Hayes et al. 2001]. Lediglich in einer Langzeitstudie über 28 Tage wurde mit 15 mg α -Tocopherol weniger eingesetzt als in unserer Langzeitstudie [van het Hof et al. 1998]. Zusammengefasst entsprechen die Dosierungen unserer Studien nicht denen der Vergleichsstudien, da unsere Dosierungen unter denen der weiteren Unter-

suchungen lagen. Das liegt darin begründet, dass in den vorliegenden Bioverfügbarkeitsstudien eine physiologische Menge an α -Tocopherol eingesetzt werden sollte.

Standardisierung der Mahlzeiten und Getränke

Eine Standardisierung der Mahlzeiten und Getränke war in den Kurzzeitkinetiken notwendig, um Einflüsse auf die Absorption und die Serumspiegel von α -Tocopherol über unterschiedliche Gehalte an Fett und Vitamin E in der Kost zu vermeiden. In unseren Untersuchungen wurden das Frühstück, in dessen Rahmen das Prüfprodukt verzehrt wurde sowie die weiteren Mahlzeiten und Getränke über die untersuchten 24 h standardisiert.

Die Studienteilnehmer verzehrten das jeweilige Prüfprodukt im Rahmen eines Frühstücks mit einem standardisierten Lipidgehalt von ca. 30 g. Nach Untersuchungen von Parks et al. [2000] und Villaverde et al. [2008] ist eine Menge von 30 g Fett zur Gewährleistung der Absorption von 60 mg α -Tocopherol ausreichend.

Zusätzlich sollten bei weiteren Studien Zeiträume vorgegeben werden, die beim Verzehr der Prüfprodukte und des Frühstücks einzuhalten sind. So kann davon ausgegangen werden, dass die Prüfprodukte zusammen mit dem standardisierten Frühstück bei jedem Studienteilnehmer annähernd zur selben Zeit in den Magen gelangen und somit nahezu die gleichen Abstände bei den einzelnen Studienteilnehmern zwischen dem Verzehr und den folgenden Blutentnahmen bestehen. In der Form könnte die Bestimmung der Biokinetik des α -Tocopherols noch weiter standardisiert werden. Dies wurde bereits in zwei Kurzzeitkinetiken praktiziert, in denen die Teilnehmer angewiesen wurden, die Prüfprodukte sowie das standardisierte Frühstück innerhalb von 10 bzw. 20 Minuten einzunehmen [Fairus et al. 2006; Herrero-Barbudo et al. 2006]. In welcher Form Auswirkungen durch diese Vorgaben auf die Ergebnisse zu erwarten sind, kann allerdings nicht beurteilt werden, da die Untersuchungen in ihrem weiteren Studiendesign weder miteinander noch mit unserem vergleichbar waren.

Zur Erreichung einheitlicher Studienbedingungen zwischen den Untersuchungstagen erhielten die Studienteilnehmer über die gesamte Untersuchungszeit von 24 h standardisierte Mahlzeiten und Getränke. Die Mahlzeiten waren weitestgehend Vitamin-E-arm, jedoch nicht vollkommen Vitamin-E-frei. Dies wäre erforderlich, um nur die Bioverfügbarkeit des in den Prüfprodukten enthaltenen α -Tocopherols ohne Verzerrungen durch zusätzlich in den Mahlzeiten enthaltenes Vitamin E zu bestimmen. Eine absolut Vitamin-E-freie Ernährung über 24 h wäre allerdings sehr einseitig und kaum genießbar, so dass aus Gründen der Compliance eine Vitamin-E-arme Kost eingesetzt wurde. Um ideale Voraussetzungen für die Bestimmung der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zu

gewährleisten, sollten die weiteren Mahlzeiten dennoch absolut Vitamin-E-frei gestaltet werden. Zur Sicherstellung der Compliance der Teilnehmer sollten diese vorab über die Zusammensetzung der gesamten Verköstigung informiert werden, so dass die Zahl der Studienabbrecher minimiert wird. Die Studienteilnehmer wurden angewiesen, innerhalb des Untersuchungszeitraums von 24 h nur Wasser sowie schwarzen Kaffee oder Tee zu trinken. Damit wurde eine unkontrollierte zusätzliche Aufnahme von Kalorien im Laufe der Untersuchungszeit vermieden, um eine weitere Beeinflussung der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zu vermeiden. Grundsätzlich ist eine Standardisierung aller Mahlzeiten und Getränke über den gesamten Untersuchungszeitraum sinnvoll, da der Verlauf der Serumkonzentrationen ebenfalls über die ganze Zeitspanne bestimmt wird und somit ein Einfluss durch Mahlzeiten mit abweichenden Lipid- und Vitamin-E-Gehalten die analysierten Serumspiegel und vor allem die biokinetischen Parameter beeinflussen könnte.

6.1.3 Biokinetische Parameter

In der vorliegenden Arbeit sollte unter anderem untersucht werden, wie sich mit α -Tocopherol angereicherte Lebensmittel lebensmitteltechnologisch so modifizieren lassen, dass das enthaltene α -Tocopherol eine möglichst hohe Bioverfügbarkeit aufweist. Dazu wurde die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol des jeweiligen Prüfproduktes mittels Biokinetikstudien bestimmt. Ziel der Biokinetik von Nährstoffen ist es, mit Hilfe vorformulierter Modelle Messwertserien im Zeitverlauf und biokinetische Parameter zu interpretieren, um daraus Erkenntnisse über die Bioverfügbarkeit, Umsatzgrößen, Ausscheidungswege oder -mechanismen zu gewinnen [Kübler 2002c].

Die einfachste Methode, die Bioverfügbarkeit einer Substanz zu beurteilen ist die, den Verlauf der Serumkonzentrationen über die Zeit zu bewerten. Dies geschieht in der Regel durch einen optischen Vergleich der Verlaufskurven. Der wichtigste biokinetische Parameter ist die Fläche unter der Serumkonzentration-Zeit-Kurve (area under the concentration/time curve, AUC). Mit Hilfe des AUC kann dabei das Ausmaß der Absorption von α -Tocopherol bzw. die absolute Menge an α -Tocopherol im Blutkreislauf abgeschätzt werden. Zusätzlich können die maximale Serumkonzentration (c_{\max}) und die Zeit zum Erreichen von c_{\max} (t_{\max}) bestimmt werden. Um die Vergleichbarkeit der Daten der einzelnen Studienteilnehmer zu gewährleisten, wurden die Serumkonzentrationen zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten (c_i) um den Nüchternwert der Serumkonzentration (c_0) korrigiert. Da α -Tocopherol einem ständigen Transport zwischen den Organen unterliegt, ist im Nüchternzustand immer eine Basalkonzentration im Serum nachzuweisen, die individuell unterschiedlich ausfällt. Diese Basalkonzentrationen müssen bei der biokinetischen Beurteilung und Auswertung abgezogen werden. Nur so

können die Verläufe der Serumkonzentration-Zeit-Kurven verschiedener Personen miteinander verglichen werden [Kübler 2002d]. Für die statistische Auswertung wurden jeweils die Mittelwerte des AUC sowie von c_{\max} und t_{\max} mittels geeigneter statistischer Testverfahren miteinander verglichen. Grundsätzlich wurden jeweils die α -Tocopherol- sowie die um die Gesamtcholesterol- und die um die Summe aus Gesamtcholesterol- und Triacylglycerid-Konzentrationen adjustierten α -Tocopherol-Serumspiegel bestimmt, da diese bedingt durch den gleichzeitigen Transport in den Lipoproteinen im Blut direkt korrelieren [Thurnham et al. 1986]. Nachfolgend werden die einzelnen biokinetischen Parameter in Bezug auf ihre Aussagefähigkeit für die Bioverfügbarkeit und die Vergleichbarkeit mit anderen Biokinetikstudien zur Verfügbarkeit von α -Tocopherol bewertet.

Fläche unter der Serumkonzentration-Zeit-Kurve (area under the concentration/time curve, AUC)

Das am häufigsten genutzte biokinetische Prinzip ist der AUC, der nach einer Substanzgabe durch Flächenmessung der resultierenden Serumkonzentration-Zeit-Kurven Schlüsse auf die in den zentralen Blutkreislauf übergetretenen Stoffmengen zulassen [Kübler 2002b]. Bei diesem Parameter können mit Hilfe statistischer Testverfahren Vergleiche zwischen zwei oder mehreren Prüfprodukten gezogen und ausgewertet werden. Im vorliegenden Fall wurde der AUC der α -Tocopherol-, der α -Tocopherol/Gesamtcholesterol- sowie der α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglycerid-Konzentrationen bestimmt. Durch die enge Korrelation der Blutlipidfraktionen mit den Serum- α -Tocopherol-Spiegeln können über die lipidadjustierten α -Tocopherol-Konzentrationen die exaktesten Aussagen über den Vitamin-E-Status einer Person getroffen werden [Heseker et al. 1993; Thurnham et al. 1986]. Daher ist davon auszugehen, dass die AUC-Werte, die aus den korrigierten α -Tocopherol-Konzentrationen berechnet wurden, die größte Aussagekraft hinsichtlich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten besitzen.

Mittels einer größeren Anzahl an Blutentnahmezeitpunkten, idealerweise in stündlichem Abstand, könnten noch genauere Aussagen zur absoluten Menge an absorbierten α -Tocopherol getroffen werden, was aber unter ethischen Gesichtspunkten über 24 h nicht durchführbar ist. In den vorliegenden Studienphasen wurden die Zeitpunkte der Blutabnahmen so gewählt wurden, dass die Abstände um die erwarteten maximalen Serumkonzentrationen enger gestaffelt und die übrigen Zeitpunkte relativ gleichmäßig verteilt waren. Zum besseren Vergleich der Ergebnisse der einzelnen Studienphasen, sollten in jeder Studienphase die gleichen Blutentnahmezeitpunkte gewählt werden, was

in der vorliegenden Untersuchung nicht erfolgte. Dies lag darin begründet, dass die Untersuchungen als Pilotstudien für die vorliegenden Prüfprodukte gesehen wurden und die Blutentnahmezeitpunkte jeweils anhand der in der vorhergehenden Studienphase bestimmten maximalen Serumkonzentrationen und Serumkonzentration-Zeit-Verläufen angeglichen wurden. Für nachfolgende Untersuchungen kann die ideale Verteilung der Blutentnahmezeitpunkte über die 24 h mit Hilfe der bereits durchgeführten Studien bestimmt werden, so dass in jeder Studienphase dieselben Zeitpunkte zum besseren Vergleich gewählt werden können.

Die AUC_{0-24} -Werte der hier vorliegenden Kurzzeitkinetiken lagen zwischen $25,5 \pm 34,3$ und $98,4 \pm 53,8 \mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$ (Studienphase IV und III). Dagegen wiesen die Vergleichsstudien eine sehr große Spanne von 68-930 $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$ (durchschnittlich ca. 278,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{h/l}$) auf [Bruno et al. 2005; Jeanes et al. 2005]. In der einzigen Kinetikstudie mit einer ähnlichen Dosierung (75 mg α -Tocopherol) wie der vorliegenden wurde der AUC nicht bestimmt [Traber et al. 1998], daher ist ein direkter Vergleich mit anderen Studien nicht möglich. Die große Spannweite der AUC-Werte der Vergleichsstudien ist wiederum auf die unterschiedlich hohe Dosierung von α -Tocopherol sowie das abweichende Studiendesign zurückzuführen. Auffällig bei den Werten unserer aber auch der zum Vergleich herangezogenen Studien sind die hohen Standardabweichungen, die auf individuelle Unterschiede zurückzuführen sind. Hier stellt sich die Frage, inwieweit die statistischen Mittelwertvergleichstests in der nachfolgenden Diskussion relevante Aussage zulassen. Diese werden allerdings dadurch erreicht, dass nicht allein der AUC_{0-24} als Parameter herangezogen wird, sondern alle Daten der biokinetischen Parameter zusammen betrachtet und gegeneinander abgewogen werden.

Maximale Serumkonzentration (c_{max})

Die maximale Serumkonzentration besagt, wie groß die höchste nachgewiesene α -Tocopherol-Konzentration im Serum ist. Der Wert kann für statistische Berechnungen mit anderen c_{max} -Werten verglichen werden. Allerdings sind keine Angaben über die absolute aufgenommene Menge einer Substanz möglich, da über einen einzelnen Wert, keine Aussagen darüber getätigt werden können wie viel α -Tocopherol insgesamt über die Zeit absorbiert wurde.

Während die Werte für die maximalen Konzentrationen von α -Tocopherol in den Vergleichsstudien durchschnittlich 7,9 $\mu\text{mol/l}$ und eine sehr große Spanne: (0,6-31,6 $\mu\text{mol/l}$ aufwiesen [Proteggente et al. 2005; Wajda et al. 2007]), lagen die c_{max} -Werte in unseren Studienphasen deutlich näher zusammen ($3,0 \pm 1,6$ bis $6,5 \pm 2,3 \mu\text{mol/l}$ (Studienphase I und III)). Die große Spannweite der Vergleichsstudien ist auf die ebenfalls

große Varianz der verabreichten Dosen an α -Tocopherol zurückzuführen. In einer von der Dosierung her vergleichbaren Kurzzeitkinetik, in der 75 mg α -Tocopherol verabreicht wurden, betrug c_{\max} etwa 3 $\mu\text{mol/l}$ [Traber et al. 1998], was mit den kleinsten c_{\max} -Werten unserer Kurzzeitkinetiken (Studienphase I: $3,0 \pm 1,6 \mu\text{mol/l}$) übereinstimmt.

Zeit bis zum Erreichen von c_{\max} (t_{\max})

Der t_{\max} -Wert gibt den Zeitpunkt an, an dem die maximale Serumkonzentration (c_{\max}) erreicht wurde. Von ihm kann indirekt darauf geschlossen werden, wie schnell eine Substanz aus dem Gastrointestinaltrakt in das Blut gelangt. In den vorliegenden Studien wurde der Parameter als Hinweis darauf genutzt, wie schnell das α -Tocopherol aus der entsprechenden Lebensmittelmatrix gelöst werden konnte. Mittels statistischer Berechnungen können Vergleiche zwischen den t_{\max} -Werten der einzelnen Prüfprodukte gezogen werden. Dennoch diente der Parameter eher deskriptiven Zwecken, da über ihn keine Aussagen über die Bioverfügbarkeit einer Substanz getroffen werden können.

In den vorliegenden Studienphasen wiesen die t_{\max} -Werte eine relativ große Varianz auf ($3,8 \pm 1,1$ bis $8,4 \pm 2,5$ h (Studienphase I und II)), was auch in den zum Vergleich herangezogenen Studien zu beobachten war. Diese wiesen durchschnittliche t_{\max} -Werte von 9,9 h und eine große Spannweite (4,0-14,0 h [Fairus et al. 2006; Traber et al. 1998]) auf. Diese unterschiedlichen Werte sind auf die abweichenden Studiendesigns zurückzuführen. Hier ist vor allem die Lebensmittelmatrix zu nennen, die nicht mit der unsrigen vergleichbar ist. Darüber hinaus sind aber auch die Dosierung, die Zusammensetzung des Frühstücks sowie die im weiteren Untersuchungszeitraum verabreichten standardisierten Mahlzeiten nicht mit den hier vorliegenden vergleichbar.

Verlauf der Serumkonzentration-Zeit-Kurven

Über den zeitlichen Konzentrationsverlauf von α -Tocopherol im Serum konnte die Höhe der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den einzelnen Prüfprodukten abgeschätzt werden. Nach dem Verzehr von mit α -Tocopherol angereicherten Prüfprodukten im Rahmen eines standardisierten Frühstücks sollte die Serumkonzentration zunächst ansteigen, da die Aufnahme des lipidlöslichen α -Tocopherols in die Enterozyten und die Distribution in den Blutkreislauf erfolgt. Im weiteren zeitlichen Verlauf ist nach Erreichen eines Maximums die Abnahme der α -Tocopherol-Serumkonzentration zu erwarten, da das α -Tocopherol in die Zielzellen gelangt, metabolisiert und ausgeschieden wird [Bjørneboe et al. 1990]. In den vorliegenden Studienphasen stiegen die Serumspiegel nach der Aufnahme der Prüfprodukte schnell bis zum Maximum an und fielen danach wieder ab.

Allerdings erreichten die Serumkonzentrationen nicht wieder die Nüchternkonzentrationen. Dies ist wahrscheinlich dadurch bedingt, dass zum einen die Probanden über den Tag verteilt Mahlzeiten mit einem geringen Gehalt an α -Tocopherol erhalten haben und zum anderen das α -Tocopherol im Körper einem ständigen Transport zwischen den Geweben und damit einer laufenden Präsenz in der Blutbahn unterliegt [Behrens et al. 1982].

Über den zeitlichen Verlauf der Serumkonzentrationen kann grafisch bestimmt werden, ob Unterschiede zwischen den Prüfprodukten in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol bestehen. Dieser Parameter lässt Angaben darüber zu, zu welchem Zeitpunkt und in welchem Maße eine bestimmte Substanz im Blut erscheint sowie verschwindet und wie die Serumspiegel generell über die Zeit verlaufen. Beispielsweise kann daraus abgelesen werden, ob ein oder mehrere Maxima über den Zeitverlauf bestehen oder ob die Serumkonzentration einer Sättigung unterliegt. Dieser Parameter eignet sich jedoch nicht, um Aussagen über die absoluten Aufnahmemengen zu treffen [Kübler 2002b]. Darüber hinaus ist kein statistischer Vergleich zwischen zwei oder mehreren Produkten möglich. Der zeitliche Verlauf der Serumkonzentrationen kann somit nur zu einer Einschätzung der Bioverfügbarkeit herangezogen werden; genauere Aussagen sollten mit Hilfe weiterer biokinetischer Parameter getroffen werden.

Die hier vorliegenden Verläufe der Serumkonzentrationen entsprachen sowohl denen der zum Vergleich herangezogenen Kurzzeit- als auch denen der Langzeitkinetik-Studien [Borel et al. 2001; Bruno et al. 2006; Cheeseman et al. 1995; Dimitrov et al. 1991; Fairus et al. 2006; Hall et al. 2005; Hayes et al. 2001; Herrero-Barbudi et al. 2006; Jeanes et al. 2004b; Jeanes et al. 2005; Leonard et al. 2004; Öhrvall et al. 2001; Proteggente et al. 2005; Proteggente et al. 2006; Reboul et al. 2007; Roodenburg et al. 2000; Traber et al. 1998; van het Hof et al. 1998; Wajda et al. 2007]. Folglich stimmte das hier beobachtete Verhalten von α -Tocopherol im Serum mit dem nach der Literatur zu erwartenden überein. Die weiteren Daten der einzelnen Studienphasen sind somit repräsentativ und können für Aussagen zur Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüflebensmitteln herangezogen werden.

Insgesamt sind die in unseren Studienphasen verwendeten biokinetischen Parameter geeignet, die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten zu bestimmen. Dabei kann mittels der AUC-Werte eine Auskunft über das Ausmaß der Absorption von α -Tocopherol bzw. über dessen Bioverfügbarkeit gegeben werden. Vor allem können mit Hilfe des AUC quantitative Vergleiche der Bioverfügbarkeit zwischen den Prüfprodukten gezogen werden. Dagegen gibt die maximale Serumkonzentration nur die Konzentration

zu einem Zeitpunkt an und nicht wie der AUC über die langfristige Konzentration im Blut. Daher ist der AUC der entscheidende Parameter für die Diskussion der Ergebnisse der einzelnen Studienphasen, da nicht die einmalige sondern die langfristige Konzentration im Blut und in den Körpergeweben ausschlaggebend für die Wirksamkeit des α -Tocopherols ist [Rodrigo et al. 2007]. Ferner entsprechen die in den Untersuchungen erhaltenen Daten denen der zum Vergleich herangezogenen Studien, womit davon ausgegangen werden kann, dass die Parameter korrekt bestimmt wurden und sie somit zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten herangezogen werden können.

6.1.4 Technologische Parameter

Die analytischen Parameter zur Charakterisierung der Prüflebensmittel wurden mit dem Ziel erhoben, von den erhaltenen Daten Aussagen hinsichtlich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Lebensmitteln abzuleiten. In der derzeitigen Literatur gibt es bislang keine Untersuchungen, bei denen ebenfalls mit Hilfe von technologischen Parametern auf die Bioverfügbarkeit einer Substanz aus einem Lebensmittel geschlossen wurde bzw. Daten der technologischen Parameter mit denen der biokinetischen Parameter verglichen wurden. Daher ist kein Vergleich mit entsprechenden Studien aus der Literatur möglich. Nachfolgend werden die hier genutzten technologischen Parameter dargestellt und hinsichtlich ihrer möglichen Bedeutung in Bezug auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüflebensmitteln beurteilt.

Der **Verteilungskoeffizient** ist ein Maß für die Löslichkeit von α -Tocopherol in der Öl- bzw. Wasserphase der Emulsion. Des Weiteren kann darauf geschlossen werden, in welchem Maße sich das α -Tocopherol aufgrund seiner Polarität in der Grenzschicht der eingesetzten Emulsion konzentriert hat [Bindrich 2007]. Somit kann der Parameter Auskunft darüber geben, wie viel α -Tocopherol bei der Verdauung der Prüfprodukte aus der Ölphase zusammen mit den Fettsäuren absorbiert werden kann. Fettlösliche Substanzen wie das α -Tocopherol, werden im Rahmen der Fettverdauung zusammen mit anderen fettlöslichen Substanzen in Micellen verpackt und in die Mucosa transportiert [Traber 2005, S. 399]. Folglich wird vermutlich umso mehr α -Tocopherol absorbiert, je mehr sich in der Ölphase befindet. Aus der Wasserphase ist eine geringere Absorption von α -Tocopherol zu erwarten, was darauf zurückzuführen wäre, dass sich in dieser Phase der Emulsion keine weiteren lipidlöslichen Substanzen finden, die zusammen mit α -Tocopherol mittels der Gallensalze absorbiert werden. Das in der Wasserphase enthaltene α -Tocopherol kann theoretisch absorbiert werden, sobald durch eine Dispergierung der wässrigen Phase α -Tocopherol in die Lipidphase übertritt und hier zusammen mit Fettsäuren und anderen lipidlöslichen Substanzen absorbiert wird. Eine

solche mechanische Dispergierung tritt im Rahmen der mechanischen Verdauung im Mund und im Magen auf [Hahn et al. 2006, s. 29]. Demzufolge kann das Verhältnis von der Menge an α -Tocopherol, das in der kontinuierlichen Phase ist, zu dem Anteil an α -Tocopherol, welches sich in der dispersen Phase befindet, ein Maß dafür sein, wie viel und wie schnell das α -Tocopherol aus der Lebensmittelmatrix absorbiert wird und im Blut erscheint bzw. wie groß die Bioverfügbarkeit ist.

Die beschriebenen Hintergründe hängen mit den Stoffübergangsvorgängen in den eingesetzten Emulsionen zusammen. Stoffübergangsvorgänge bezeichnen das Überreten einer Substanz über die Grenzfläche von der dispersen in die kontinuierliche Phase oder umgekehrt [Bindrich 2007]. Je größer die Stoffübergangsvorgänge sind desto schneller kann eine Substanz aus der Emulsion gelöst werden bzw. desto mehr wird von dieser Substanz theoretisch vom Körper aufgenommen. Das Ausmaß der Stoffübergangsvorgänge innerhalb einer Emulsion kann demnach ein Maß für die Bioverfügbarkeit einer Substanz sein und kann über die nachfolgend beschriebenen technologischen Parameter bestimmt werden.

Die **Partikelgrößenverteilung** gibt Auskunft über den jeweiligen Anteil von Tropfen der kleiner ist als ein definierter Tropfendurchmesser. Eine davon abgeleitete Größe ist die Größe der spezifischen Grenzfläche, die den Dispersitätszustand der Emulsionen beschreibt und damit das Ausmaß der auf Grund der Größe der spezifischen Grenzfläche möglichen Stoffübergangsvorgänge. Je größer die spezifische Grenzfläche ist, desto mehr Stoffübergänge sind pro Flächeneinheit möglich, d.h. der Anteil einer Substanz, die aus der Matrix gelöst und absorbiert werden kann steht theoretisch in linearem Zusammenhang mit der Größe der spezifischen Grenzfläche. Dies wird von einer Untersuchung von Hayes et al. [2001] bestätigt, bei der all-rac- α -Tocopheryl-Acetat aus einer Mikrodispersion von Milch eine zweifach bessere Bioverfügbarkeit aufwies als aus einer Dispersion mit durchschnittlicher Tropfenverteilung. In einer Kinetikstudie von Wajda et al. [2007] konnte sogar eine zehnfach höhere Bioverfügbarkeit von Vitamin E aus einer Nanoemulsion im Vergleich zu Vitamin E aus einer Standardformulierung nachgewiesen werden. Andererseits konnte in einer weiteren Biokinetikstudie kein Zusammenhang zwischen der Tröpfchengröße und der Bioverfügbarkeit von Vitamin E festgestellt werden. Bei dieser Studie wurde Vitamin E zum einen in einer Feinemulsion ($0,7 \pm 0,2 \mu\text{m}$) und zum anderen in einer Grobemulsion ($10,1 \pm 0,9 \mu\text{m}$) direkt in den Magen appliziert. Die in das Blut aufgenommene Menge an Vitamin E war über die Zeit nahezu gleich groß [Borel et al. 2001]. Ein direkter Zusammenhang zwischen der Größe der spezifischen Grenzfläche einer Emulsion und der Höhe der Absorption konnte somit anhand der derzeitigen Literatur noch nicht eindeutig geklärt werden.

Der Umfang der Stoffübergangsvorgänge, welches als Maß für die Bioverfügbarkeit einer Substanz aus einer Emulsion genutzt werden kann, ist abhängig von der Stabilität der Grenzfläche. Diese kann mit Hilfe der **Emulsionsstabilität** und indirekt über den **extrahierbaren Fettanteil** (EFA) beschrieben werden. Die Emulsionsstabilität untersucht die Stabilität des Emulsionssystems über einen definierten Zeitraum. Bei Instabilität der Emulsion können Stoffübergangsprozesse stattfinden, womit mehr Substanz aus der Matrix gelöst und absorbiert werden kann. Der EFA ist ein Maß für die Durchlässigkeit der Grenzfläche. Er gibt Auskunft darüber, inwieweit die Moleküle der gebildeten Grenzflächen geschlossen beieinander liegen, d.h. in welchem Maße freie Fettsäuren mittels eines unpolaren Lösungsmittels aus der Emulsion gelöst werden können [Bindrich 2007]. Dies kann ein Hinweis darauf sein, inwieweit die Ölphase für Verdauungsenzyme zugänglich ist und auf diese Weise α -Tocopherol zusammen mit den Fettsäuren aus der Lipidphase absorbiert werden kann. Das bedeutet die Emulsionsstabilität hängt theoretisch invers mit der Höhe der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten zusammen, während zwischen dem EFA und der Bioverfügbarkeit ein positiver Zusammenhang besteht.

Mit Hilfe der **Oberflächentopographie** und der **Strukturcharakterisierung** sind die Verteilung und Struktur der Lipid- und Proteinmoleküle in der Emulsion optisch bestimmbar [Bindrich 2007]. Dabei wird davon ausgegangen, dass bei einer gleichmäßigen Verteilung der Lipidtröpfchen sowie bei Lipidtröpfchen, die eine glatte Oberfläche aufweisen, die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol mutmaßlich größer ist. Dies liegt darin begründet, dass die Verdauungsenzyme ungehindert an die Oberflächen der Tröpfchen angreifen können, demzufolge das α -Tocopherol vermehrt herauslösen können, womit folglich mehr α -Tocopherol aus der Emulsion absorbiert wird. Dagegen könnten zusammen gelagerte Lipidtröpfchen zu einer eingeschränkten Aufnahme des α -Tocopherols führen, da die Angriffsfläche für die Verdauungsenzyme verkleinert ist. Auch die Verteilung von Protein und Fett kann ein Hinweis darauf sein, inwieweit die Lipidtröpfchen für die Verdauungsenzyme zugänglich sind. Beispielsweise könnte ein Fetttropfen, der komplett von Protein umhüllt ist, weniger gut von den Verdauungsenzymen erreicht werden als ein Fetttropfen, der in der Matrix verteilt vorliegt. Damit wäre eine geringere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus einem von Protein umhüllten Lipidtröpfchen zu erwarten als aus einem frei vorliegenden Fettpartikel.

Eine **rheologische Charakterisierung** von Lebensmitteln dient vornehmlich der Einschätzung der Viskosität und damit der sensorischen Eigenschaften des Produkts [Bindrich 2007]. Dabei können theoretisch Rückschlüsse von der Viskosität auf die Bioverfügbarkeiten von in dem Lebensmittel enthaltenen Substanzen gezogen werden. Hierbei ist mutmaßlich bei einer niedrigen Viskosität, d.h. einer geringeren Festigkeit der

inneren Strukturen, von einer höheren Bioverfügbarkeit auszugehen. Dies kann damit begründet werden, dass eine festere Matrix zunächst durch die mechanische Verdauungstätigkeit in Mund und Magen aufgebrochen werden muss, um für die Verdauungsenzyme angreifbar zu sein. Somit würden die enthaltenen Substanzen erst später aus der Matrix freigesetzt. Dies ist im vorliegenden Fall jedoch nicht von Bedeutung, da die mechanische Verdauung bereits in Mund und Magen stattfindet, während die Lipidverdauung vor allem im Dünndarm erfolgt [Hahn et al. 2006, S. 29]. Somit würde zum Zeitpunkt der eigentlichen Absorption des α -Tocopherols der Chymus bei allen Prüfprodukten die gleiche Konsistenz aufweisen, womit dieselben Voraussetzungen für die Fettverdauung und damit für die Absorption von α -Tocopherol vorlägen.

Zusammengefasst sollte mit Hilfe der technologischen Parameter beurteilt werden, in welchem Ausmaß und mit welchem Aufwand das α -Tocopherol im Rahmen der Verdauungsvorgänge aus der Lebensmittelmatrix gelöst werden kann, anschließend im Dünndarm absorbiert wird und damit für physiologische Funktionen zur Verfügung steht. Ob diese Zusammenhänge tatsächlich bestehen soll nachfolgend anhand der Daten aus den einzelnen Studienphasen diskutiert werden.

6.2 Biokinetikstudien

6.2.1 Studienphase I

In dieser Studienphase wurden die Bioverfügbarkeiten von 60 mg α -Tocopherol aus je einer Portion Frischkäse, Mayonnaise und Pudding in einer Kurzzeitkinetik-Untersuchung miteinander verglichen. Die Prüfprodukte wurden technologisch charakterisiert (vgl. Kapitel 4.1.7). Ziel dieser Studienphase war es, den möglichen Einfluss der Lebensmittelmatrix auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zu bestimmen.

6.2.1.1 Biokinetische Parameter

In der Studienphase I konnte ein signifikanter Unterschied zwischen dem AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride) des Frischkäses und der Mayonnaise festgestellt werden ($p=0,010$), womit insgesamt signifikant mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise absorbiert wurde. Dieses spiegelte sich auch in den Verläufen der Serumkonzentrationen wider, die deutlich zeigen, dass mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise als aus dem Pudding aufgenommen wurde. Bei den um die Gesamtcholesterol- und Triacylglyceridspiegel adjustierten α -Tocopherol-

Konzentrationen zeigte sich weiterhin, dass aus dem Frischkäse jeweils mehr α -Tocopherol in die Blutbahn gelangte als aus der Mayonnaise und dem Pudding. Auch der Vergleich der prozentualen Änderungen der Serumspiegel vom Nüchternwert zur maximalen Konzentration bestätigt dieses Verhältnis, welches sich auch in den maximal erreichten Serumkonzentrationen (C_{max}) zeigte. Diese waren für Frischkäse ($3,9 \pm 2,0 \mu\text{mol/l}$) und Mayonnaise ($3,9 \pm 2,7 \mu\text{mol/l}$) praktisch gleich hoch, während sie für den Pudding ($3,0 \pm 1,6 \mu\text{mol/l}$) niedriger lagen (vgl. Kapitel 5.1.2).

Des Weiteren gelangte das α -Tocopherol signifikant schneller aus dem Pudding als aus dem Frischkäse und aus dem Frischkäse signifikant schneller als aus der Mayonnaise in das Serum. Dabei wurde das α -Tocopherol aus dem Pudding ($t_{max}: 3,8 \pm 1,1 \text{ h}$) nahezu doppelt so schnell wie aus der Mayonnaise ($t_{max}: 7,4 \pm 0,9 \text{ h}$) absorbiert (vgl. Kapitel 5.1.2).

Zusammengefasst deuten die biokinetischen Parameter in dieser Studienphase darauf hin, dass aus dem Pudding etwa ein Viertel weniger α -Tocopherol absorbiert wurde als aus dem Frischkäse und der Mayonnaise. Darüber hinaus scheint der Frischkäse besser als die Mayonnaise geeignet zu sein, das α -Tocopherol dem Körper zur Verfügung zu stellen, da bei den überwiegenden biokinetischen Parametern mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse absorbiert wurde. Die Unterschiede zwischen dem Frischkäse und der Mayonnaise waren nicht eindeutig, so dass die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise in der zweiten Studienphase differenziert untersucht werden sollte. Das α -Tocopherol wurde aus dem Pudding am schnellsten durch die Verdauungsvorgänge zur Verfügung gestellt, während es aus dem Frischkäse langsamer absorbiert wurde und aus der Mayonnaise die längste Zeit brauchte um vom Darm aufgenommen zu werden.

6.2.1.2 Technologische Parameter

Mittels der untersuchten technologischen Parameter sollten Rückschlüsse auf die Verfügbarkeit des α -Tocopherols aus den Prüfprodukten gezogen werden. Dies kann jedoch nur theoretisch geschehen, da derzeit keine Untersuchungen zu dieser Thematik in der Literatur vorliegen.

Der Verteilungskoeffizient gibt Auskunft darüber, in welchem Maß das eingesetzte α -Tocopherol in den einzelnen Phasen der Emulsionssysteme löslich ist. Danach ist bei allen drei Prüfprodukten nur eine minimale Menge an α -Tocopherol in die Wasserphase übergetreten ($<0,1 \text{ mg/100 g}$ Prüfprodukt), obwohl sich die Konzentration des α -Tocopherols in der Ölphase in allen drei Produkten vermindert hat. Somit ist ein Teil des α -Tocopherols aufgrund seiner Polarität in die Grenzfläche zwischen der Öl- und der

Wasserphase übergegangen. Die größte Menge an α -Tocopherol befand sich in der Grenzschicht des Puddings (17% bzw. 10,3 mg/60 mg α -Tocopherol), etwas weniger konnte in der Grenzschicht der Mayonnaise nachgewiesen werden (15,7% bzw. 9,4 mg/60 mg α -Tocopherol) und der geringste Anteil wurde in der Grenzschicht des Frischkäses gefunden (12% bzw. 7,2 mg/60 mg α -Tocopherol) (vgl. Kapitel 5.1.3.1). Je mehr α -Tocopherol sich in der Grenzfläche oder in der wässrigen Phase befindet desto weniger verbleibt in der Ölphase, aus der das lipidlösliche α -Tocopherol zusammen mit den freien Fettsäuren absorbiert wird. Demnach müsste das α -Tocopherol aus dem Frischkäse die größte Bioverfügbarkeit aufweisen, das aus der Mayonnaise eine geringere und das aus dem Pudding die geringste Bioverfügbarkeit.

Mit Hilfe der Partikelgrößenverteilung können die davon abgeleitete Größe der spezifischen Grenzfläche sowie der Größenverteilungskoeffizient und damit der disperse Zustand der Emulsion bestimmt werden. Von den untersuchten Prüfprodukten wiesen der Frischkäse (2,21 m²/g) und die Mayonnaise (2,14 m²/g) nahezu den gleichen dispersen Zustand auf. Im Pudding fanden sich kleinere Tropfen hatte, was zu einer größeren spezifischen Grenzfläche des Puddings (3,17 m²/g) führte, wodurch vermehrt Stoffe zwischen den beiden Phasen der Emulsion übertreten können (vgl. Kapitel 5.1.3.2). Anhand dieses Parameters war zu erwarten, dass die gleiche Menge an α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise aufgenommen wurde, während mehr α -Tocopherol aus dem Pudding absorbiert wurde.

Die Emulsionsstabilität war in allen Prüfprodukten über sieben Tage optimal. Somit waren keine Veränderungen der Emulsionen und damit der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol durch eine eventuelle Lagerung zu erwarten (vgl. Kapitel 5.1.3.3). In den vorliegenden Untersuchungen wurden die Produkte nicht gelagert, da alle Produkte jeweils am Tag vor der Untersuchung unter standardisierten Bedingungen hergestellt und unter optimalen Lagerungsbedingungen (kühl und dunkel) zum Untersuchungszentrum versendet wurden. Somit war dieser Parameter für die vorliegenden Untersuchungen der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten nicht von Bedeutung.

Über den extrahierbaren Fettanteil (EFA) kann die Durchlässigkeit der Grenzfläche der Emulsionen bzw. die Stabilität der Emulgatorsysteme beschrieben werden [Bindrich 2007]. Die Daten können damit als Hinweis auf die Zugänglichkeit der Ölphase für die Verdauungsenzyme gesehen werden. Die Mayonnaise wies einen neunmal größeren EFA als der Pudding und sogar einen 16x höheren als der Frischkäse auf. Dagegen hatte der Pudding einen fast zweimal so großen EFA wie der Frischkäse. Somit ist aus der Mayonnaise experimentell mit Abstand die größte Menge an Fett gelöst worden, während aus dem Pudding und dem Frischkäse nur wenig Fett extrahiert werden konnte (vgl.

Kapitel 5.1.3.4). Theoretisch würde dies der jeweiligen Menge an aus der Matrix lösbarem und absorbierbarem α -Tocopherol entsprechen.

Die Untersuchung der Oberflächentopographie zeigte in der Mayonnaise eine hohe Konzentration an Öltröpfchen, die gleichmäßig in der Matrix verteilt waren. Die Fetttropfen waren außerdem kugelförmig und wiesen eine glatte Oberfläche auf. Damit brachten die Fetttropfen der Mayonnaise theoretisch gute Voraussetzungen mit, um von den Verdauungsenzymen erreicht zu werden, die das α -Tocopherol aus der Lipidphase lösen können. Die Fetttropfen des Puddings waren ungleichmäßig in der Matrix verteilt, weitestgehend zu Clustern zusammen gelagert und hatten eine glatte Oberfläche. Durch diese Clusterbildung bieten sie eine kleinere Fläche für die Verdauungsenzyme, womit diese theoretisch weniger α -Tocopherol aus der Emulsion absorbieren können. Die Lipidtröpfchen des Frischkäses wiesen eine teilweise glatte, teilweise unebene Oberfläche auf, die durch eine zusätzliche Assoziation von Caseinat bedingt war. Diese Assoziation erhöht die sterische Hinderung, ist aber kein Hinweis auf Instabilität [Bindrich 2007]. Die Fetttropfen waren in Caseinmicellen eingebettet, die gleichmäßig über die gesamte Matrix verteilt vorlagen. Durch die gleichmäßige Verteilung der Fetttropfen sind diese theoretisch besser zugänglich für Enzyme als die zusammen gelagerten Fetttropfen des Puddings. Andererseits sind sie eventuell durch die Caseinmicellen geschützt, so dass weniger α -Tocopherol aus der Matrix gelöst werden kann als aus der Mayonnaise (vgl. Kapitel 5.1.3.5). Demnach wäre zu erwarten, dass am meisten α -Tocopherol aus der Mayonnaise, etwas weniger aus dem Frischkäse und der geringste Teil aus dem Pudding absorbiert wurde.

Die Strukturcharakterisierung zeigte, dass bei der Mayonnaise das Fett deutlich vom Protein abgesetzt war, indem die Fetttropfen vom Protein umhüllt waren. Dagegen war das Fett des Puddings innerhalb eines größeren Proteinanteils verteilt. Somit müsste bei der Mayonnaise zunächst das die Fetttropfen umgebende Protein von proteolytischen Enzymen verdaut werden, damit anschließend das Fett für die Lipasen zugänglich ist. Dagegen könnten bei der Verdauung des Puddings die Verdauungsenzyme die Substanzen relativ zur selben Zeit umsetzen (vgl. Kapitel 5.1.3.6). Das könnte sich in einem gegenüber dem Pudding späteren Anstieg der α -Tocopherol-Konzentration im Serum bei dem Verzehr der Mayonnaise äußern.

Die rheologische Untersuchung der Prüflbensmittel ergab für die Mayonnaise die niedrigste Viskosität. Der Frischkäse und der Pudding wiesen bei geringer Scherbelastung die gleiche Viskosität auf, während bei zunehmender Belastung die Viskosität des Frischkäses über der des Puddings lag (vgl. Kapitel 5.1.3.7). Damit könnte theoretisch die grobe Struktur der Mayonnaise durch die mechanische Verdauung im Mund und Magen schneller aufgelöst werden, während die Struktur des Frischkäses und

des Puddings relativ länger erhalten bleiben würde. Für die Absorption im Dünndarm sollte das keine Bedeutung haben, da die mechanische Verdauung in Mund und Magen bis zur Darmpassage abgeschlossen ist [Hahn et al. 2006, S. 29] und damit die Viskositätsunterschiede nicht mehr von Bedeutung wären.

Der Oszillationsversuch zeigte die gleiche Festigkeit der inneren Strukturen für die Mayonnaise und den Pudding, wohingegen der Frischkäse eine zehnfach höhere Festigkeit aufwies (vgl. Kapitel 5.1.3.7). Diese ist wahrscheinlich durch das dreidimensionale Netzwerk der Caseinmicellen bedingt, das sich in der Emulsion des Frischkäses ausbildet. Somit müsste zunächst das Casein teilweise abgebaut werden, um die freien Fettsäuren und fettlöslichen Substanzen (α -Tocopherol) absorbieren zu können, womit das α -Tocopherol aus dem Frischkäse später absorbiert und in die Blutbahn gelangen würde.

Zusammengenommen erzeugen die Daten der technologischen Parameter ein uneinheitliches Bild in Bezug auf die wahrscheinliche Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten. Hier kann ein Vergleich der biokinetischen und technologischen Parameter dazu genutzt werden, die Eignung der technologischen Parameter hinsichtlich ihrer Aussagekraft bezüglich der Bioverfügbarkeit zu beurteilen.

6.2.1.3 Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter

Die Daten der biokinetischen Parameter der Studienphase I zeigen, dass signifikant mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise als aus dem Pudding absorbiert wurde. Dabei wies das α -Tocopherol aus dem Frischkäse eine geringfügig größere Bioverfügbarkeit auf als das aus der Mayonnaise. Des Weiteren wurde das α -Tocopherol aus dem Pudding schneller absorbiert als aus dem Frischkäse und der Mayonnaise, wobei die Absorption des α -Tocopherols aus der Mayonnaise die längste Zeit in Anspruch nahm. Aus den technologischen Parametern konnte keine einheitliche Aussage hinsichtlich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den verschiedenen Prüfprodukten abgeleitet werden.

Zwischen den Ergebnissen der technologischen und der der biokinetischen Parameter bestand nur teilweise ein Zusammenhang. So sprachen die Daten des Verteilungskoeffizienten und der Partikelgrößen für eine gegenüber dem Pudding bessere Aufnahme von α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise. Die Oberflächentopographien wiesen ebenfalls auf eine höhere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise hin. Demzufolge scheint durch die Clusterbildung der Fetttropfen im Pudding die Angriffsfläche für die Lipasen verringert zu werden, was zu einer geringeren Absorption von Fett und damit des α -Tocopherols führen würde. Die Ergebnisse des extrahierbaren Fettanteils waren andererseits widersprüchlich zu den

Daten der biokinetischen Größen, was gegen einen Zusammenhang dieser Parameter spricht. Demnach scheinen die Daten des EFA nur eine Aussage über die Stabilität der Grenzflächen gegenüber unpolaren Lösungsmitteln, nicht jedoch über die Durchlässigkeit der Grenzflächen für die Verdauungsenzyme und damit über die Höhe der Aufnahme von α -Tocopherol zu zulassen.

Bezüglich der Zeit zum Erreichen der maximalen Konzentration im Serum (t_{\max}) stimmten die Daten der Strukturcharakterisierung mit denen der biokinetischen Parameter überein und wiesen auf eine gegenüber dem Pudding schnellere Aufnahme von α -Tocopherol aus der Mayonnaise hin. So könnte das die Fetttröpfchen umhüllende Protein in der Mayonnaise die Absorption von α -Tocopherol verzögert haben, während das Fett zusammen mit dem α -Tocopherol, das sich in der Proteinmatrix des Puddings verteilt befindet, relativ schnell vom Körper aufgenommen werden konnte. Die Daten der Oberflächentopographie stimmten nicht mit den Ergebnissen von t_{\max} überein, was dafür spricht, dass die Strukturen der Lebensmittelmatrix für die Absorption von fettlöslichen Substanzen irrelevant waren, da die Matrix durch die mechanische Verdauung im Mund und Magen [Hahn et al. 2006, S. 29] bereits homogenisiert wurden. Dies spiegelte sich auch darin wider, dass die Festigkeit der Emulsion keinen Einfluss auf die Geschwindigkeit der Absorption von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten hatte. Auch hier scheinen durch die mechanischen Verdauungsvorgänge und die Abgabe des Nahrungsbreis in den Darm in kleinen Portionen, die Struktur und Verteilung von Protein und Fett in der Matrix nebensächlich für die Bioverfügbarkeit zu sein.

Insgesamt zeigen die in der Studienphase I ermittelten Daten, dass die Mayonnaise und der Frischkäse eine signifikant höhere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol gewährleisteten als der Pudding. Die Ergebnisse zeigten jedoch keine deutlichen Unterschiede zwischen dem Frischkäse und der Mayonnaise, wenn auch mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise absorbiert wurde. Dies machte eine Vertiefung und Differenzierung der Untersuchungen in einer zweiten Studienphase notwendig.

6.2.2 Studienphase II

Aufgrund der Ergebnisse der Studienphase I wurden in der Studienphase II die Bioverfügbarkeiten von α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise in einer Kombination aus einer Kurzzeit- sowie einer Langzeitkinetik bestimmt und miteinander verglichen. Die Daten der technologischen Charakterisierung der Prüfprodukte wurden der Studienphase I entlehnt, da die Prüfprodukte nach derselben Standardrezeptur hergestellt wurden. Ziel dieser Studienphase war es, die Ergebnisse aus der Studienphase I weiterführend zu vertiefen.

6.2.2.1 Kurzzeitkinetik

6.2.2.1.1 Biokinetische Parameter

In der Kurzzeitkinetik waren bei keinem der biokinetischen Parameter signifikante Unterschiede feststellbar. Es zeichnete sich aber ein deutlicher Trend dahingehend ab, dass mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise absorbiert wurde. Dies betraf sowohl den AUC_{0-24} (α -Tocopherol), den AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol), c_{max} , die Verläufe der Serumkonzentrationen, die prozentualen Änderungen der Serumspiegel von α -Tocopherol und α -Tocopherol/Gesamtcholesterol als auch die Serumkonzentrationen zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten. Allein beim AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride) sowie der prozentualen Änderungen der Serumspiegel von α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride waren die Konzentrationen in der Mayonnaisegruppe geringfügig höher als in der Frischkäsegruppe. Die ermittelten Werte von t_{max} unterschieden sich nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen, allerdings war die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Serumkonzentration in der Frischkäsegruppe größer als in der Mayonnaisegruppe (vgl. Kapitel 5.2.1.2).

Zusammengefasst zeichnete sich in dieser Kurzzeitkinetik wie in der Studienphase I ein Trend ab, dass das α -Tocopherol aus dem Frischkäse eine bessere Bioverfügbarkeit aufwies als aus der Mayonnaise. Auch wenn die Unterschiede nicht signifikant waren, so deutete doch der überwiegende Teil der biokinetischen Parameter darauf hin. Des Weiteren erfolgte der Anstieg der Serumkonzentrationen nach dem Verzehr des Frischkäses im Durchschnitt eine Stunde später als bei der Mayonnaise.

6.2.2.1.2 Technologische Parameter

In dieser Untersuchungsphase wurden die gleichen Prüfprodukte eingesetzt wie in der Studienphase I, daher werden an dieser Stelle die wichtigsten Aussagen zu den technologischen Parametern zusammengefasst. Detaillierte Erläuterungen hierzu finden sich in Kapitel 6.2.1.2.

Nach dem Verteilungskoeffizient sollte das α -Tocopherol aus dem Frischkäse eine größere Bioverfügbarkeit aufweisen als das aus der Mayonnaise, da sich im Frischkäse die größere Menge an α -Tocopherol in der Lipidphase befand.

Anhand des Größenverteilungskoeffizienten wiesen beide Prüfprodukte nahezu die gleiche spezifische Grenzfläche auf, womit zu erwarten war, dass die gleiche Menge an α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise aufgenommen wurde.

Die Mayonnaise wies einen 16x höheren extrahierbaren Fettanteil (EFA) auf als der Frischkäse, womit aus der Mayonnaise experimentell die weitaus größere Menge an freien Fettsäuren gelöst werden konnte und damit sehr viel mehr α -Tocopherol absorbiert werden könnte.

Anhand der Oberflächentopographie war zu erwarten, dass mehr α -Tocopherol aus der Mayonnaise als aus dem Frischkäse absorbiert wurde. Die Fetttropfen lagen in der Mayonnaise gleichmäßig verteilt vor, während sie in dem Frischkäse in Clustern vorlagen, was die Zugänglichkeit für die Verdauungsenzyme erschweren würde.

Schließlich sollte die nachgewiesenen unterschiedliche Viskosität der Prüfprodukte auf die Absorption im Dünndarm keine Auswirkungen haben, da die mechanische Verdauung im Magen erfolgt und bis zur Darmpassage, während der das α -Tocopherol absorbiert wird, abgeschlossen ist.

Zusammengefasst zeigten die technologischen Parameter kein einheitliches Bild in Bezug auf die Bioverfügbarkeit. Nach diesen Daten erschien sowohl die Bioverfügbarkeit aus dem Frischkäse als auch aus der Mayonnaise größer als aus dem jeweils anderen Prüfprodukt. Allerdings konnte davon ausgegangen werden, dass das α -Tocopherol aus der Mayonnaise schneller aufgenommen wurde als aus dem Frischkäse.

6.2.2.1.3 Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter

Auch wenn zwischen den Prüfprodukten keine signifikanten Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol bestanden, so wurde doch eindeutig mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise aufgenommen. Dabei wurde das α -Tocopherol aus dem Frischkäse zeitlich später als aus der Mayonnaise absorbiert. In dieser Studienphase fand sich die unterschiedliche Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten in nur einem technologischen Parameter (Partikelgrößenverteilung) wieder. Nach diesem befand sich beim Frischkäse weniger α -Tocopherol in der Grenzfläche bzw. mehr innerhalb der Lipidphase als bei der Mayonnaise. Dies sprach dafür, dass mehr α -Tocopherol zusammen mit den Fettsäuren aus dem Frischkäse absorbiert würde, was auch beobachtet werden konnte.

Die Ergebnisse der weiteren technologischen Parameter standen nicht in Zusammenhang zu der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten. So war die Partikelgrößenverteilung beider Prüfprodukte annähernd gleich, während ein deutlicher Unterschied in der Höhe des ins Serum aufgenommenen α -Tocopherols festgestellt wurde. Auch die rheologischen Untersuchungen haben gezeigt, dass die Festigkeit der Matrix keinen Einfluss auf die Absorptionsrate hatte. Dies stand vermutlich damit in Zusammenhang, dass die Matrix an sich bereits im Mund und Magen mechanisch

dispergiert und damit die innere Struktur aufgebrochen wird. So können die Verdauungsenzyme im Dünndarm direkt an die entsprechenden Nährstoffe angreifen und diese für die Absorption bereitstellen [Hahn et al. 2006, S. 29]. Auch die Oberflächenstruktur ließ keine Schlussfolgerung bezüglich der Höhe der Absorption zu. Die gleichmäßige Verteilung der Fettpartikel der Mayonnaise sprach für eine gute Absorption. Allerdings scheinen die Caseinmicellen des Frischkäses nicht, wie angenommen, die Verdauung der Lipidtropfen und damit des α -Tocopherols einzuschränken. Auch der extrahierbare Fettanteil scheint nur eine Aussage über die Stabilität der Grenzflächen gegenüber unpolaren Lösungsmitteln zuzulassen, jedoch keinen Bezug zur Absorptionsrate von α -Tocopherol aus der Lipidphase zu bilden.

Die Daten der Oberflächentopographie, der Strukturcharakterisierung und den rheologischen Parametern zeigten Hinweise auf eine verzögerte Absorption von α -Tocopherol aus dem Frischkäse. So könnten die Bildung der Caseinmicellen sowie die Festigkeit des Frischkäses für eine langsamere Verdauung von α -Tocopherol verantwortlich sein. Theoretisch können die Caseinmicellen, in die die Lipidtropfen mit dem α -Tocopherol eingebettet waren, die Absorption von α -Tocopherol verzögern. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass für die Absorption zunächst die Proteine verdaut werden müssen. Dies könnte ein Grund für den späteren Anstieg der Serumspiegel bei der Verdauung des Frischkäses sein. Allerdings sollten die Viskosität sowie die Verteilung von Protein und Fett in der Lebensmittelmatrix keinen Einfluss auf die Geschwindigkeit der Absorption gehabt haben, da durch die mechanische Verdauung in Mund und Magen diese Strukturen bereits aufgebrochen werden und zum Zeitpunkt der Absorption der lipidlöslichen Substanzen im Dünndarm [Hahn et al. 2006, S. 29] nicht mehr relevant sind.

Es soll nicht außer Acht gelassen werden, dass der AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride) und die prozentualen Änderungen der Serumspiegel von α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride in der Mayonnaisegruppe höhere Werte aufwiesen als in der Frischkäsegruppe. Allerdings waren die Unterschiede zwischen den Gruppen so minimal, dass eher von einer gleichwertigen Bioverfügbarkeit ausgegangen werden kann. Dies würde wiederum den Ergebnissen der Partikelgrößenverteilung entsprechen. Der Literatur nach sollten Matrices mit einer ähnlichen Partikelgröße zu vergleichbaren Bioverfügbarkeiten von Substanzen führen [Armand et al. 1999].

Zusammengefasst war anhand der Daten der Kurzzeitkinetik dieser Studienphase das α -Tocopherol aus dem Frischkäse über 24 h geringfügig besser bioverfügbar als aus der Mayonnaise. Dabei wurde die maximale Serumkonzentration nach dem Verzehr des Frischkäses etwa eine Stunde später erreicht als nach dem der Mayonnaise. Diese Ergebnisse zur Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise sollten in der nachfolgenden Langzeitkinetik genauer abgeklärt werden.

6.2.2.2 Langzeitkinetik

6.2.2.2.1 Biokinetische Parameter

In der Langzeitkinetik-Untersuchung galt es zu überprüfen, ob bei einer chronischen Aufnahme der Prüfprodukte ein Unterschied in der Höhe der Absorption von α -Tocopherol zwischen Frischkäse und Mayonnaise bestand. Dabei konnte anhand des AUC_{0-24} eine signifikant höhere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise festgestellt werden. Dies spiegelte sich in den Verläufen der Serumkonzentrationen wider, bei denen die Verläufe der Konzentrationen von dem Frischkäsekollektiv jeweils deutlich über denen des Mayonnaisekollektivs lagen. Auch die maximale Serumkonzentration (c_{max}) sowie die mittleren prozentualen Änderungen der Serumspiegel von α -Tocopherol und α -Tocopherol/Gesamtcholesterol lagen in der Frischkäsegruppe über der der Mayonnaisegruppe. Dies bestätigte sich auch in den durchweg höheren Serumkonzentrationen von Frischkäse gegenüber denen von Mayonnaise zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten. In beiden Gruppen war innerhalb der ersten Woche ein deutlicher Anstieg mit einer anschließenden Sättigung zu beobachten, das heißt die Serumspiegel verblieben auf einem Niveau und stiegen nicht weiter an. Dabei erreichten die α -Tocopherol-Serumspiegel in der Frischkäsegruppe insgesamt später das Maximum als in der Mayonnaisegruppe (vgl. Kapitel 5.2.2.2).

Somit war das α -Tocopherol bei chronischer Aufnahme aus dem Frischkäse signifikant besser bioverfügbar als aus der Mayonnaise. Die Serumspiegel von α -Tocopherol waren jedoch über die chronische Zufuhr nicht beliebig steigerbar.

6.2.2.2.2 Technologische Parameter

In der vorliegenden Langzeituntersuchung wurden über die täglich aufgenommene Menge an α -Tocopherol dessen Serumspiegel dauerhaft erhöht. Ausschlaggebend für die kurzfristige und damit auch langfristig bessere Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols aus dem Frischkäse war die Lebensmittelmatrix der Prüfprodukte, die mittels der technologischen Parameter charakterisiert wurde. Von diesen konnten jedoch, wie in Kapitel 6.2.2.1.2 beschrieben keine einheitlichen Schlussfolgerungen in Bezug auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten gezogen werden. Abhängig vom jeweiligen technologischen Parameter erschien entweder der Frischkäse oder die Mayonnaise besser geeignet zu sein, das α -Tocopherol dem Körper zur Verfügung zu stellen.

6.2.2.2.3 Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter

Bei der chronischen Aufnahme der mit α -Tocopherol angereicherten Prüfprodukte über vier Wochen stiegen die Serumspiegel in der Frischkäsegruppe signifikant höher an als in der Mayonnaisegruppe. Dabei wurde bei der täglichen Aufnahme jeweils mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise absorbiert. Allerdings stiegen die Serumkonzentrationen innerhalb einer Woche bis zu einem Maximum an und blieben anschließend auf einem annähernd konstanten Niveau. Die maximalen Serumkonzentrationen wurden in dem Frischkäsekollektiv durchschnittlich etwas später erreicht als in dem Mayonnaisekollektiv. Somit wurde auch das Sättigungsniveau der Serumspiegel später erreicht. Dieser Sättigungsprozess ist bedingt durch eine zunächst begrenzte Anzahl an Transportproteinen im Serum, dessen Expression durch eine chronische Aufnahme von α -Tocopherol induziert wird [Fechner et al. 1998]. Einerseits wird so zunächst nur ein begrenzter Anteil von α -Tocopherol zu den peripheren Geweben transportiert, andererseits wird α -Tocopherol ständig metabolisiert und ausgeschieden. Dies führt dazu, dass der Serumspiegel bei chronischer Aufnahme zunächst bis zur vollständigen Besetzung der Transportproteine ansteigt und bei Überschreitung der Kapazität dieser Proteine vermehrt α -Tocopherol metabolisiert wird, was das leichte Absinken der Serumspiegel nach Erreichen des Maximums bis zum Einpendeln auf ein bestimmtes Niveau erklärt [Kayden und Traber 1993; Wu und Croft 2007]. Durch die ständig höhere Aufnahme von α -Tocopherol aus dem Frischkäse wird auch verstärkt die Bildung des Transportproteins induziert, wodurch die Serumspiegel langfristig in der Frischkäsegruppe mehr angestiegen sind als in der Mayonnaisegruppe.

Die Daten der technologischen Parameter unterstützten nur zum Teil die Ergebnisse der biokinetischen Parameter. So war nach dem Verteilungskoeffizient im Frischkäse mehr α -Tocopherol in der Lipidphase verblieben und weniger in die Grenzschicht übergetreten als bei der Mayonnaise. Damit könnte zusammen mit den Fettsäuren aus der Ölphase jeweils mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse absorbiert worden sein, was sich in den biokinetischen Parametern widerspiegelte.

Dagegen schienen die weiteren technologischen Parameter keine Hinweise auf die Bioverfügbarkeit zu geben. Nach der Partikelgröße wiesen beide Prüflebensmittel die gleichen durchschnittlichen Größen der Fetttropfen auf, obwohl die Absorptionsrate des α -Tocopherols beim Frischkäse größer war. Die Struktur der Prüfprodukte schien ebenfalls keinen Einfluss auf die Höhe der Absorption von α -Tocopherol zu haben. Die danach erwartete geringere bzw. verzögerte Absorption von α -Tocopherol aus dem Frischkäse konnte anhand der biokinetischen Daten nicht bestätigt werden. Diese Vermutung richtete sich sowohl nach der im Gegensatz zu der Mayonnaise höheren

Festigkeit der inneren Strukturen des Frischkäses als auch nach den Caseinmicellen die die Fettpartikel umhüllten. Beides schien, vor allem bei einer chronischen Aufnahme, keinen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol auszuüben. Auch die Daten des extrahierbaren Fettanteils stimmten nicht mit den Ergebnissen der biokinetischen Parameter überein, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Daten des EFA nur Auskunft darüber geben, wie viele freie Fettsäuren durch ein unpolares Lösungsmittel aus der Lipidphase gelöst werden können; sie sind jedoch kein Maß für die Zugänglichkeit der Emulsion für die Verdauungsenzyme.

Zusammengefasst zeigten die biokinetischen Daten und der Verteilungskoeffizient, dass bei chronischer Aufnahme der mit α -Tocopherol angereicherten Prüfprodukte signifikant mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse aufgenommen wurde als aus der Mayonnaise. Dabei waren nach einer bestimmten Zeit die Plasmaspiegel gesättigt, was im Fall des Frischkäses später eintraf und ein höheres Niveau erreichte. Neben dem kurzfristigen Anstieg der Serumspiegel nach Aufnahme der Prüfprodukte ist vor allem die langfristige Erhöhung der Serumspiegel von α -Tocopherol für dessen Wirksamkeit im Körper ausschlaggebend [Rodrigo et al. 2007]. Diese steht wiederum mit der einmalig höheren Absorptionsrate von α -Tocopherol aus dem Frischkäse in Zusammenhang.

6.2.3 Studienphase III

Zur weiteren Optimierung der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse wurden die Partikelgrößen des Frischkäses variiert und die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten in einer Kurzzeitkinetik überprüft. Auch hier erfolgte eine lebensmitteltechnologische Charakterisierung der Prüfprodukte (vgl. Kapitel 4.1.7). Ziel dieser Studienphase war es, den möglichen Einfluss der Partikelgröße auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zu untersuchen.

6.2.3.1 Biokinetische Parameter

Bei dieser Studienphase war zu erwarten, dass die Höhe der Absorption von α -Tocopherol mit zunehmender Partikelgröße der Fetttropfen abnimmt. Dies beruht auf der Annahme, dass kleinere Partikel eine größere Oberfläche besitzen, wodurch die Verdauungsenzyme eine größere Angriffsfläche haben und somit mehr α -Tocopherol zusammen mit den Fettsäuren absorbiert werden. Diese Theorie wurde sowohl in Human- als auch in Tierstudien bestätigt [Wajda et al. 2007; Baldi et al. 1997], wobei es auch Untersuchungen gab, die keinen Zusammenhang zwischen der Partikelgröße und der aufgenommenen Menge von Vitamin E gezeigt haben [Borel et al. 2001].

In unserer Untersuchung konnte diese negative Korrelation zwischen der Partikelgröße und der Höhe der Absorption ebenfalls bestätigt werden. Der AUC nahm signifikant mit zunehmender Partikelgröße des Frischkäses ab. Allerdings bestand zwischen dem Frischkäse mit den kleinen Partikeln und dem Frischkäse nach der Standardrezeptur kein bedeutender Unterschied in der Höhe der Absorption, so dass nicht von einer Steigerung der Bioverfügbarkeit durch die Variation der Partikelgröße ausgegangen werden kann. Bei allen weiteren biokinetischen Parametern konnte dagegen kein linearer Zusammenhang zwischen der Partikelgröße und der Höhe der Bioverfügbarkeit festgestellt werden (vgl. Kapitel 5.3.2).

Indessen zeigte sich ein positiver linearer Zusammenhang zwischen der Zeit bis zum Erreichen der maximalen Serumkonzentration und der Partikelgröße des Frischkäses (vgl. Kapitel 5.3.2). Somit scheint der Anstieg der Serumkonzentrationen mit zunehmender Partikelgröße später zu erfolgen, was wiederum durch die kleinere Oberfläche und die damit einhergehende geringere Angriffsfläche für die Verdauungsenzyme bedingt ist. Eine kleinere Oberfläche erfordert mehr Zeit bis das α -Tocopherol aus den Lipidtropfen gelöst und anschließend absorbiert werden kann [Armand et al. 1994; Armand et al. 1996].

Zusammengefasst konnte anhand der AUC_{0-24} -Werte eine negative Korrelation zwischen der Größe der Lipidpartikel und der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol bestimmt werden. Dieser Zusammenhang scheint allerdings nicht eindeutig zu sein, da die weiteren untersuchten Parameter der Biokinetik dies nicht bestätigten. Darüber hinaus konnte die Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols durch die Variation der Partikelgröße kaum gesteigert werden. Außerdem wurde das α -Tocopherol umso schneller vom Darm absorbiert, je kleiner die Lipidpartikel waren, in denen es sich befand.

6.2.3.2 Technologische Parameter

In dieser Studienphase wurden nur die Partikelgrößenverteilung und der extrahierbare Fettanteil der Prüfprodukte bestimmt, da hier ursprünglich ein Zusammenhang zu der Bioverfügbarkeit vermutet wurde. Die Rezeptur der Prüfprodukte entsprach der des in den Studienphasen I und II eingesetzten Frischkäses; bei diesem wurde die Partikelgröße variiert, indem die Emulsion jeweils einer höheren und niedrigeren Scherbelastung als in der Standardrezeptur ausgesetzt wurde. So entstanden drei Frischkäseemulsionen mit unterschiedlich großen Partikeln.

Die Partikelgrößenverteilung der drei Prüfprodukte entsprach dem erwarteten Ergebnis. So spiegelte die Partikelgrößenverteilung und die Größe der spezifischen Grenzfläche die gewünschte Partikelgröße wider und bestätigte den linearen negativen Zusammenhang zwischen diesen Größen (vgl. Kapitel 5.3.3.1). Hier war zu erwarten, dass sich mit

zunehmender Größe der spezifischen Grenzfläche die Absorption des α -Tocopherols aus dem Frischkäse erhöht.

Die weiteren technologischen Daten entsprachen allerdings nicht den, nach der bei der Herstellung angestrebten Partikelgröße, erwarteten; die Ergebnisse waren relativ uneinheitlich. So wies der Frischkäse mit den kleinen Partikeln und der mit den großen Partikeln einen nahezu gleichen Größenverteilungskoeffizienten auf, während der für den Standardfrischkäse fast doppelt so groß war. Damit hatten der Frischkäse mit den kleinen Partikeln sowie der mit den großen Partikeln relativ einheitliche Partikelgrößen, während die Analyse des Standardfrischkäses für diesen ein breites Spektrum mit unterschiedlichen Partikelgrößen ergab. Dies könnte darauf hinweisen, dass der Frischkäse mit den kleinen Partikeln und der mit den großen Partikeln ein ähnliches Verhalten bezüglich der Bioverfügbarkeit aufwies und dieses bei dem Standardfrischkäse davon abwich. Der extrahierbare Fettanteil (EFA) war bei dem Frischkäse mit den kleinen Partikeln sowie bei dem mit den normalen Partikeln etwa gleich groß, während der EFA des Frischkäses mit den großen Partikeln etwa dreimal so groß war. Theoretisch war daher zu erwarten, dass aus dem Frischkäse mit den großen Partikeln mehr α -Tocopherol aufgenommen wurde als aus den beiden anderen und aus diesen etwa gleich viel (vgl. Kapitel 5.3.3).

Insgesamt konnte belegt werden, dass die tatsächliche Partikelgröße der einzelnen Prüfprodukte der jeweils bei der Herstellung angestrebten entsprach. Allerdings widersprachen die Daten zu den technologischen Parametern den Ergebnissen der biokinetischen Parameter; hier konnten keine Zusammenhänge zwischen der Größe der Partikel und den Ergebnissen der Analysen nachgewiesen werden.

6.2.3.3 Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter

Theoretisch nimmt die Höhe der Absorption von α -Tocopherol aus einer Emulsion mit zunehmender Partikelgröße und geringerer spezifischer Grenzfläche der Emulsion ab. Dieser Zusammenhang sollte in dieser Studienphase überprüft werden. Während der zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit wichtigste Parameter (AUC_{0-24}) diesen Zusammenhang widerspiegelte, konnte die Theorie anhand der weiteren biokinetischen Parameter nicht bestätigt werden. Dies drückte sich ebenfalls in den uneinheitlichen Daten der technologischen Parameter aus.

Die Daten der weiteren biokinetischen Parameter und der technologischen Parameter ergaben, dass zwischen der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten und der Partikelgrößenverteilung ein inverser Zusammenhang bestand. Wie eine Untersuchung von Zhang und Ducker [2008] gezeigt hat, setzen sich bei starker Scherung von O/W-Emulsionen kleine Öltröpfen an die Grenzflächen. So können sich bei den

Emulsionen mit den kleinen Partikeln zusätzlich α -Tocopherol enthaltene Öltröpfchen an den Grenzflächen befinden, die wiederum leichter und schneller durch die Verdauungsenzyme erreicht werden und das α -Tocopherol somit vermehrt und schneller aus der Emulsion mit den kleineren Partikeln absorbiert wird.

Andererseits zeigten die Daten des extrahierbaren Fettanteils keinen Bezug zur Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den verschiedenen Emulsionen, womit davon ausgegangen werden kann, dass der EFA nur eine Aussage über die Stabilität der Grenzflächen gegenüber einem unpolaren Lösungsmittel zulässt.

Die durchschnittliche Zeit bis zum Erreichen der maximalen Serumkonzentration nahm mit zunehmender Partikelgröße der Prüfprodukte zu. Das bedeutet, je größer die Partikel in der Emulsion waren, desto länger war die Zeitspanne bis zum Anstieg der α -Tocopherol-Serumspiegel. Dies kann in Zusammenhang mit der Partikelgrößenverteilung gesehen werden. Durch die größeren Partikel besteht eine kleinere Angriffsfläche für die Verdauungsenzyme, was zu einer verzögerten Absorption des α -Tocopherols zusammen mit den Fettsäuren aus der Lipidphase führt [Armand et al. 1994; Armand et al. 1996]. Die schnellere Aufnahme des α -Tocopherols aus dem Frischkäse mit den kleinen Partikeln kann wie erwähnt ebenfalls auf die kleinen Lipidtröpfchen, die sich bei starker Scherbelastung an der Grenzfläche bilden, bedingt sein [Zhang und Ducker 2008]. Die sich an der Grenzfläche befindlichen Öltröpfchen enthalten α -Tocopherol und können von den Verdauungsenzymen schneller erreicht werden, wodurch das α -Tocopherol aus diesen Prüfprodukten eher in Micellen verpackt und von den Mucosazellen absorbiert werden kann.

Zusammengefasst zeigte der AUC eine signifikant negative Beziehung zwischen der Partikelgröße und der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol. Allerdings konnte die Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols durch die Variation der Partikelgröße gegenüber der Standardrezeptur kaum gesteigert werden. Darüber hinaus konnte ein Zusammenhang zwischen der Breite des Partikelgrößenspektrums und der Absorptionsrate gesehen werden. Bei relativ einheitlichen Partikelgrößen scheint mehr α -Tocopherol aus der Emulsion absorbiert zu werden als bei deutlich unterschiedlich großen Partikeln in der Emulsion. Des Weiteren besteht ein direkter Zusammenhang zwischen der Größe der Partikel und der Absorptionszeit. So wurde das α -Tocopherol umso schneller absorbiert, je kleiner die Partikel waren.

6.2.4 Studienphase IV

In der Studienphase IV wurden die Bioverfügbarkeiten von α -Tocopherol aus vier verschiedenen Prüfprodukten in einer Kurzzeitkinetik über 24 h bestimmt und miteinander verglichen. Dabei wurden die Lipidemulsionen des Frischkäses aus den Studienphasen I und II eingesetzt und zwar einmal mit einem pH-Wert von 6,5 und mit einem pH-Wert von 4,5 sowie diese jeweils in getrockneter Form. Ziel dieser Untersuchungsphase war es, zum einen den Einfluss des pH-Wertes und zum anderen den der Trocknung der Prüfprodukte auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten zu analysieren. In dieser Studienphase galt es zu überprüfen, ob das Vitamin E mit einer entsprechend hohen Bioverfügbarkeit als Nahrungsergänzungsmittel in verkapselter Form verabreicht werden könnte.

6.2.4.1 Biokinetische Parameter

Nachfolgend werden die Daten der biokinetischen Parameter (vgl. Kapitel 5.4.2) hinsichtlich ihrer Aussage zur Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den verschiedenen Prüfprodukten diskutiert. Dabei werden zunächst die ungetrockneten Emulsionen und anschließend die getrockneten miteinander verglichen. Nach einem Vergleich der Emulsionen die denselben pH-Wert aufweisen werden abschließend alle vier Prüfprodukte gegenübergestellt.

Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion pH-Wert 4,5

Der Vergleich der ungetrockneten Emulsionen zeigte durchgehend bei allen untersuchten biokinetischen Parametern, dass aus der Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 mehr α -Tocopherol absorbiert wurde als aus der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5. Diese Unterschiede waren im Fall der prozentualen Veränderungen der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol signifikant ($p=0,037$) und wiesen einen Trend zur Signifikanz für die prozentualen Veränderungen der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol/Gesamtcholesterol ($p=0,065$) auf. Die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Serumkonzentration (t_{\max}), war bei beiden vergleichbar. Insofern schien mehr α -Tocopherol bei einem niedrigen pH-Wert von 4,5 absorbiert zu werden, als bei einem höheren pH-Wert von 6,5.

Demnach stellte der niedrige pH-Wert von 4,5 eine bessere Voraussetzung für die Absorption von α -Tocopherol dar als der höhere pH-Wert von 6,5. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass das α -Tocopherol bei dem niedrigen pH-Wert über die physiologischen Verdauungsvorgänge vermehrt aus der Matrix freigesetzt und absorbiert

wird. Was damit zu erklären ist, dass die Sekretion des für die Verdauung fettlöslicher Substanzen notwendigen Pankreassekrets durch die Freisetzung des gastrointestinalen Hormons Cholecystokinin ausgelöst wird, dessen Sezernierung wiederum durch den in das Duodenum gelangenden Chymus initiiert wird. Cholecystokinin wird bei einem pH-Wert des Chymus von 4,0-4,5 in die Blutbahn abgegeben [Carey et al. 1983; DeNigris et al. 1985]. Bei der Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert von 4,5 bestand somit schon vorab die ideale Voraussetzung für die Verdauungsvorgänge. Hier erfolgt die Freisetzung des Cholecystokinin vermutlich zeitlich eher als bei der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5, wodurch das Pankreassekret früher und damit vermehrt sezerniert wird, womit mehr Lipide und α -Tocopherol aus der Matrix gelöst und absorbiert werden können.

Zusammengefasst zeigte das α -Tocopherol aus der Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert von 4,5 eine bessere Bioverfügbarkeit als das aus der Emulsion mit dem höheren pH-Wert von 6,5, was vermutlich physiologisch bedingt ist.

Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5

Bei den getrockneten Emulsionen war das α -Tocopherol aus der getrockneten Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 signifikant besser (AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol): $p=0,031$; AUC_{0-24} (α -Tocopherol/Gesamtcholesterol+Triacylglyceride): $p=0,039$) bioverfügbar als aus der getrockneten Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert von 4,5. Auch der überwiegende Teil der weiteren biokinetischen Parameter zeigte eine bessere, jedoch nicht signifikante, Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus der Emulsion mit dem pH-Wert 6,5. Des Weiteren wies die Gruppe mit dem höheren pH-Wert einen tendenziell signifikant höheren t_{max} -Wert ($p=0,069$) auf, was bedeutet, dass die maximale Serumkonzentration in dem Kollektiv der Emulsion mit dem pH-Wert 6,5 später erreicht wurde als in dem der Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert 4,5.

Insgesamt deuten die Ergebnisse dieses Vergleichs darauf hin, dass bei getrockneten Emulsionen die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol bei einem höheren pH-Wert größer ist, als bei einem geringeren pH-Wert. Diese zu dem Vergleich der ungetrockneten Emulsionen gegensätzlichen Ergebnisse könnten damit auf die Trocknung der Emulsionen zurückzuführen sein. Da es in der derzeitigen Literatur keine Daten zur Bioverfügbarkeit von fettlöslichen Substanzen aus getrockneten Emulsionen gibt, können an dieser Stelle keine Vergleiche getroffen und somit nur Vermutungen angestellt werden.

Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5

Der Vergleich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Emulsionen mit dem pH-Wert von 6,5 in ungetrockneter und getrockneter Form, hat für die getrocknete Emulsion niedrigere AUC-Werte ergeben. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant. Die t_{\max} -Werte waren in der Gruppe der getrockneten Emulsion höher, was dafür spricht, dass das α -Tocopherol aus der getrockneten Emulsion langsamer absorbiert wurde; allerdings fiel dieser Unterschied nicht statistisch signifikant aus. Auch hier liegt derzeit keine Literatur zur Bioverfügbarkeit von fettlöslichen Substanzen aus getrockneten Emulsionen vor, so dass kein Vergleich mit anderen Untersuchungen vorgenommen werden kann.

Zusammengenommen scheint, die Trocknung der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zu senken. Die Daten deuten darauf hin, dass das α -Tocopherol aus der getrockneten Emulsion langsamer absorbiert wurde.

Emulsion pH-Wert 4,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5

Im Vergleich der Emulsionen mit dem auf den pH-Wert des Frischkäses eingestellten pH-Wert von 4,5 in ungetrockneter und getrockneter Form zeichnete sich eine bessere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus der ungetrockneten Emulsion ab. Alle untersuchten AUC_{0-24} -Werte waren in der Gruppe der ungetrockneten Emulsion signifikant größer als in der Gruppe der getrockneten Emulsionen. Auch die weiteren biokinetischen Parameter zeigten zum größten Teil, dass mehr α -Tocopherol aus der ungetrockneten Emulsion absorbiert wurde. Des Weiteren war die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Serumkonzentration (t_{\max}) in der Gruppe der ungetrockneten Emulsionen größer als in der Gruppe mit den getrockneten Emulsionen.

Zusammengefasst hat in diesem Vergleich die Trocknung der Emulsion eher eine Verringerung der Bioverfügbarkeit bewirkt.

Gesamtvergleich

Der Vergleich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus allen Prüfprodukten hat ergeben, dass aus den ungetrockneten Emulsionen signifikant mehr α -Tocopherol absorbiert wurde als aus den getrockneten. Bei den ungetrockneten Emulsionen war das α -Tocopherol aus der Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert von 4,5 signifikant besser bioverfügbar und bei den getrockneten Emulsionen signifikant besser aus der Emulsion mit dem höheren pH-Wert von 6,5.

Das bedeutet zusammengenommen, dass die Trocknung der Emulsionen in unserer Untersuchung einen negativen Einfluss auf die Höhe der Absorption hatte und bei den ungetrockneten Emulsionen ein niedriger pH-Wert die bessere Voraussetzung für die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol darstellt.

6.2.4.2 Technologische Parameter

In dieser Studienphase wurden nur die ungetrockneten und nicht die getrockneten Emulsionen mittels technologischer Verfahren untersucht. Dabei wurden die Partikelgrößenverteilung, der extrahierbare Fettanteil und die Oberflächentopographie bestimmt.

Die Partikelgrößenverteilung ergab sehr unterschiedliche Daten für die untersuchten Emulsionen. Während die Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 eine monodisperse Tröpfchengrößenverteilung hatte, konnte die Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 als polydispers beschrieben werden und wies somit ein sehr breites Spektrum an Partikelgrößen auf. In der Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 waren die größten Lipidtropfen etwa fünfmal größer als die der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5. Allerdings war die spezifische Grenzfläche bei der Emulsion mit dem pH-Wert 6,5 mit $4,55 \text{ m}^2/\text{g}$ größer als die der Emulsion mit dem pH-Wert 4,5 mit $3,56 \text{ m}^2/\text{g}$ (vgl. Kapitel 5.4.3.1). Vermutlich führen eine einheitlichere Tröpfchengröße der Lipide sowie eine größere spezifische Grenzfläche zu einer erhöhten Aufnahme von α -Tocopherol, da die Verdauungsenzyme eine größere Angriffsfläche vorfinden. Damit wäre eine gegenüber dem anderen Prüfprodukt mit dem pH-Wert von 4,5 höhere Absorption von α -Tocopherol aus der ungetrockneten Emulsion mit dem pH-Wert 6,5 zu erwarten.

Bei dem extrahierbaren Fettanteil war ebenfalls ein sehr großer Unterschied zwischen den Prüfprodukten zu verzeichnen. Der EFA war in der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 etwa 170fach geringer als der der Emulsion mit dem pH-Wert 4,5 (vgl. Kapitel 5.4.3.2). Damit waren die Grenzflächen in der Emulsion mit dem pH-Wert 6,5 weitaus stabiler gegenüber unpolarem Lösungsmittel als die der anderen Emulsion, womit eine deutlich höhere Absorptionsrate von α -Tocopherol aus der Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 erwartet werden konnte. Der deutliche Unterschied des EFA konnte durch den pH-Wert verursacht sein, indem ein niedriger pH-Wert die Ladung der grenzflächenaktiven Proteine verändert [Bos und van Vliet 2001] und damit die Grenzflächen destabilisiert.

Anhand der Oberflächentopographie war erkennbar, dass die Lipidtropfen der Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 relativ klein und kugelförmig sowie gleichmäßig verteilt waren, während die Fetttropfen der Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert von 4,5 ungleichmäßig geformt sowie innerhalb der Emulsion zu Clustern zusammengelagert waren (vgl. Kapitel 5.4.3.3). Eine gleichmäßige Verteilung der Lipidtropfen kann auf eine bessere

Absorption des α -Tocopherols aus der Emulsion mit dem pH-Wert 6,5 hindeuten, da die Verdauungsenzyme eine größere Wirkungsfläche haben.

Insgesamt konnte anhand der technologischen Parameter kein eindeutiger Unterschied in der Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols zwischen den Prüfprodukten erwartet werden, da die Daten uneinheitlich waren.

6.2.4.3 Beziehung biokinetischer und technologischer Parameter

Der Vergleich der biokinetischen Parameter der ungetrockneten Emulsionen ergab, dass mehr α -Tocopherol aus der Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert von 4,5 absorbiert wurde als aus der Emulsion mit dem höheren pH-Wert von 6,5. Dies stimmte nur teilweise mit den Daten der technologischen Parameter überein.

So war anhand des extrahierbaren Fettanteils zu vermuten, dass die Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert von 4,5 eine sehr viel höhere Absorptionsrate aufweist als das Prüfprodukt mit dem pH-Wert von 6,5. Mittels des EFA kann eine Aussage darüber getroffen werden, wie viel freie Fettsäuren mit einem polaren Lösungsmittel aus einer Matrix gelöst werden können, woraus auf eine möglichen Höhe der Absorptionsrate von fettlöslichen Substanzen geschlossen werden könnte. Diese Beziehung zwischen den Daten des EFA und der Bioverfügbarkeit konnte in diesem Fall bestätigt werden.

Andererseits deuteten die Partikelgrößenverteilung und die Oberflächentopographie daraufhin, dass aus der Emulsion mit dem höheren pH-Wert von 6,5 mehr α -Tocopherol absorbiert werden konnte. Somit scheint von der Partikelgrößenverteilung und der Oberflächentopographie keine Verknüpfung zur Bioverfügbarkeit gezogen werden zu können, da die mechanische Verdauung der Emulsion im Mund und Magen die Charakteristika der Emulsionen frühzeitig aufbrechen [Hahn et al. 2006, S. 29]. Somit sind eventuelle Unterschiede zwischen den Emulsionen für die Absorption im Dünndarm nicht mehr von Bedeutung.

Zusammengefasst scheint der pH-Wert einen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Emulsionen insofern zu haben, als dass ein pH-Wert im Bereich des physiologischen pH-Wertes des Dünndarms die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol erhöht. Weitere Einflüsse durch die Trocknung der Emulsion konnten nicht eindeutig festgestellt werden und sollten in weiteren Untersuchungen genauer überprüft werden.

6.3 Zusammenführende Betrachtung der Gesamtergebnisse

Ziel dieser Arbeit war es, mit α -Tocopherol angereicherte, emulsionsbasierte Lebensmittel und isolierte Emulsionen lebensmitteltechnologisch so zu optimieren, dass eine maximale Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol gewährleistet werden kann. Daraus ergaben sich mehrere Studienphasen in denen jeweils die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den lebensmitteltechnologisch modifizierten Prüfprodukten mittels Biokinetikuntersuchungen bestimmt wurde. Darüber hinaus sollte überprüft werden, ob von den Daten der Parameter zur technologischen Charakterisierung der Prüflebensmittel Aussagen hinsichtlich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Produkten abgeleitet werden konnten. Nachfolgend werden zunächst die Schlussfolgerungen zur Bioverfügbarkeit der einzelnen Studienphasen zusammengeführt und anschließend die Aussagekraft der technologischen Parameter bezüglich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol betrachtet.

6.3.1 Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten

In der ersten Studienphase wurden drei verschiedene Lebensmittel (Frischkäse, Mayonnaise, Pudding) des allgemein üblichen Verzehrs mit 60 mg α -Tocopherol fortifiziert. Die jeweiligen Bioverfügbarkeiten des α -Tocopherols aus den Prüfprodukten wurden mittels einer Kurzzeitkinetik-Studie bestimmt und verglichen. Dabei konnte eine signifikant bessere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise gegenüber der aus dem Pudding festgestellt werden. Die Unterschiede zwischen der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise waren nicht signifikant, wobei die α -Tocopherol-Serumspiegel nach dem Verzehr des Frischkäses höher anstiegen als nach der Aufnahme der Mayonnaise. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde der Pudding als Ansatzpunkt für ein mit α -Tocopherol angereichertes Lebensmittel zur Verbesserung des Versorgungsstatus mit Vitamin E verworfen.

In der nachfolgenden Studienphase II sollten die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse mit der aus der Mayonnaise mittels einer Kurzzeit- sowie einer Langzeitkinetik genauer betrachtet und eventuelle Unterschiede festgestellt werden. Hier erwies sich vor allem in der Langzeitkinetik-Untersuchung der Frischkäse als signifikant besser geeignet, die α -Tocopherol-Serumspiegel zu erhöhen. Allerdings war die Steigerung der Serumkonzentrationen bei einer chronischen Aufnahme beider Prüfprodukte nur bis zu einem gewissen Grad möglich. Die α -Tocopherol-Serumspiegel sind somit über angereicherte Lebensmittel nicht unendlich steigerbar, was wahrscheinlich durch die begrenzte Kapazität des α -Tocopherol spezifischen Transportproteins bedingt

ist [Fechner et al. 1998]. Dies wurde auch in einer anderen Langzeitstudie bestätigt, die gezeigt hat, dass bei hohen Dosen (440 mg, 880 mg und 1320 mg pro Tag) und bei chronischer Aufnahme über 28 Tage die Absorptionsrate wieder auf ein durchschnittliches Niveau sinkt [Dimitrov et al. 1991]. Auch in der Kurzzeitkinetik-Untersuchung zeigte sich, dass mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise absorbiert wurde. Dies erklärt die höheren Serumspiegel bei langfristigem Verzehr von mit α -Tocopherol angereichertem Frischkäse. Bei einmalig größerer Absorptionsrate von α -Tocopherol aus dem Frischkäse steigen langfristig die Serumspiegel höher an als bei dem Verzehr der Mayonnaise. Von den drei ursprünglich eingesetzten mit α -Tocopherol versetzten Prüfprodukten gewährleistete damit der Frischkäse die größte Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol. Auf Grundlage dieser Ergebnisse, wurde in den nachfolgenden Studienphasen nur der Frischkäse bzw. dessen Lipidemulsionen eingesetzt.

Wie oben erläutert, waren die vorliegenden Untersuchungen als Cross-over angelegt, womit die einzelnen Untersuchungstage absolut miteinander vergleichbar waren, so dass eine Erklärung für die unterschiedliche Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols aus den Prüfprodukten allein in den Lebensmittelmatrizes zu suchen ist. Die Lebensmittelmatrix der vorliegenden Prüfprodukte war zum einen über die Rezeptur und zum anderen über die Struktur der Emulsionen charakterisiert. Ausschlaggebend für die Emulsionen ist dabei die Zusammensetzung der Grenzflächen zwischen der dispersen und der kontinuierlichen Phase. Diese wurden in allen drei Prüfprodukten von Proteinen gebildet, die für die Stabilität der Emulsionen verantwortlich sind. Proteine zählen zu den hochmolekularen Stoffen, deren Vermögen, die Öltröpfchen in einer O/W-Emulsion zu stabilisieren, alleine von ihrer Struktur und Konformation abhängt [Das und Kinsella 1990]. Proteine bilden eine viskoelastische Grenzschicht, an der die Proteine adsorbiert vorliegen [Izmailova et al. 1999]. Das Ausmaß der Adsorption der Proteine ist wiederum abhängig von den hydrophoben Eigenschaften der Grenzflächen [Corredig und Dalgleish 1996] sowie von der Belegung der Grenzfläche mit den Proteinen [Kim und Kinsella 1985]. Somit hängen die mechanischen Eigenschaften einer Grenzschicht direkt mit der Struktur der Proteine und der Stärke der Interaktion zwischen den Proteinen zusammen [Bos und van Vliet 2001; Mackie et al. 1999; Wüstneck et al. 1996].

Die Grenzflächen der Mayonnaise werden von dem Protein-Phospholipid-Komplex des Eigelbs gebildet, während die des Frischkäses und des Puddings von den Proteinen der Milch ausgebildet werden [Euston und Hirst 1999]. Grundsätzlich scheint Eigelb weniger stabile Grenzflächen auszubilden als Milchproteine, die weitaus stabilere d.h. geschlossene und elastische Grenzflächen erzeugen [Bindrich 2007]. Somit war zu erwarten, dass mehr α -Tocopherol aus der Mayonnaise als aus dem Pudding und dem Frischkäse absorbiert wurde, was in den vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt

werden konnte. Andererseits hat die Analyse der Verteilung von Protein und Fett in der Matrix gezeigt, dass in der Mayonnaise die Fetttropfen komplett von Protein umhüllt waren, das heißt die Belegung der Grenzschicht in der Mayonnaise mit dem Protein-Phospholipid-Komplex war nahezu vollständig, womit eine sehr stabile Grenzschicht vorlag. Darüber hinaus bilden die Proteine in der Mayonnaise ein Netzwerk, das durch die Zugabe von Kochsalz (vgl. Kapitel 4.1.6.2) noch weiter stabilisiert wird. Kochsalz führt zu einer Herabsetzung der Energiebarriere, womit die Proteine leichter in das Netzwerk eindringen können. Die Oberflächenladung der Proteine ist durch Salzionen abgesättigt, so dass die Abstoßung der Proteinketten bei gleichartiger Ladung vermindert wird, was die Ausbildung eines insgesamt starken Netzwerkes ermöglicht [Ternes 2008, S. 629f]. Des Weiteren liegen die dispergierten Öltröpfchen in der Mayonnaise so dicht beieinander, dass zwischen ihnen Van-der-Waals-Kräfte wirksam werden, die die Stabilität der Grenzflächen noch zusätzlich erhöhen [Flückiger 1966]. Somit finden sich in der Mayonnaise überaus stabile Grenzflächen, die die Absorption von Substanzen aus der dispersen Phase erschweren können, was der ersten Einschätzung der Stabilität der Grenzflächen der Mayonnaise widerspricht.

Die Grenzflächen des Frischkäses und des Puddings unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung dahingehend, dass die Grenzflächen des Puddings nicht nur vom Casein sondern auch von den Molkenproteinen ausgebildet werden [Euston und Hirst 1999]. Das im Frischkäse enthaltene Natriumcaseinat bildet durch kettenähnliche Strukturen, die mittels Van-der-Waals-Kräften verbunden sind, ein stabiles und festes Gel. Diese Gelstabilität wird allerdings durch eingelagerte Lipidkügelchen unterbrochen, die, wie in den vorliegenden Prüfprodukten gewollt, die Cremigkeit des Frischkäses erhöhen, was letztendlich zu einer Destabilisierung der Emulsion führt [de Kruif 1999]. Dagegen werden die Grenzflächen im Pudding durch die Caseine und Molkenproteine des Magermilchpulvers, welche aufgrund ihres amphoteren Charakters als Emulgatoren fungieren, in umfassendem Maße stabilisiert [Timmermann 2005, S. 27]. Damit ist davon auszugehen, dass der Pudding insgesamt eine stabilere Emulsion darstellt als der Frischkäse, womit eine erhöhte Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols aus dem Frischkäse zu erwarten war.

In einer aktuellen Untersuchung wurden die physiologischen Bedingungen der Verdauung (Temperatur, pH-Wert und Ionenkonzentration) simuliert und die Auswirkungen auf die Grenzflächeneigenschaften von β -Lactoglobulin aus Molkenprotein bestimmt. Dabei wurden durch Veränderungen der Ionenkonzentration nur geringe Effekte auf die Eigenschaften der Grenzflächen erzielt, während Änderungen des pH-Wertes und der Temperatur einen Synergieeffekt hatten, womit die Grenzflächen der untersuchten Emulsionen destabilisiert wurden [Maldonado-Valderrama et al. 2009]. Demnach wäre zu

erwarten gewesen, dass die Emulsion des Puddings unter physiologischen Bedingungen ebenfalls destabilisiert wird, was zu einer vermehrten Aufnahme von α -Tocopherol aus der Matrix geführt hätte. Zu den weiteren in unseren Untersuchungen eingesetzten Emulgatorproteinen sind derzeit noch keine Untersuchungen zum Verhalten unter physiologischen Bedingungen durchgeführt worden. So können an dieser Stelle nur Vermutungen zu den Eigenschaften der Proteine im Rahmen der Verdauung und der daraus resultierenden Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols angestellt werden.

Der pH-Wert der Prüfprodukte kann ebenfalls eine Rolle bei der Absorption von α -Tocopherol spielen. Die Sekretion des für die Verdauung fettlöslicher Substanzen notwendigen Pankreassekrets wird durch die Freisetzung des gastrointestinalen Hormons Cholecystokinin ausgelöst, dessen Sezernierung wiederum durch den in das Duodenum gelangenden Chymus initiiert wird. Cholecystokinin wird bei einem pH-Wert des Chymus von 4,0-4,5 in die Blutbahn abgegeben [Carey et al. 1983; DeNigris et al. 1985]. Bei einem pH-Wert des Prüfprodukts im physiologischen Bereich des Dünndarms besteht somit schon vorab die ideale Voraussetzung für die Verdauungsvorgänge, so dass hier die Freisetzung des Cholecystokinin frühzeitig erfolgt, wodurch das Pankreassekret eher sowie vermehrt sezerniert wird und damit mehr Lipide und α -Tocopherol aus der Matrix gelöst und absorbiert werden können. Von den untersuchten Prüfprodukten wies der Frischkäse als einziges Lebensmittel einen pH-Wert von 4,5 auf [Belitz et al. 2008, S. 546], womit die größte Absorptionsrate von α -Tocopherol zu erwarten war. Dagegen lagen die pH-Werte des Puddings (pH-Wert 6,5) und der Mayonnaise (pH-Wert 3,8-4,0) außerhalb des physiologischen Bereichs [Belitz et al. 2008, S. 517ff, 570ff], was eine geringere Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols bedingen kann.

Insgesamt kann auf Grundlage der vorliegenden Daten davon ausgegangen werden, dass die Emulsion des Puddings beständiger gegenüber den Verdauungsenzymen ist als die Emulsion des Frischkäses und somit mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse absorbiert wurde als aus dem Pudding. Außerdem scheint die Stabilität der Grenzfläche der Mayonnaise mit der des Frischkäses vergleichbar zu sein, womit eine annähernd vergleichbare Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols aus den Prüfprodukten erwartet werden konnte.

Neben der Art der die Grenzflächen bildenden Proteine beeinflusst auch der absolute Gehalt der Emulgatoren bzw. Stabilisatoren in der Emulsion deren Festigkeit. Die höchsten Gehalte an Emulgatoren bzw. Stabilisatoren waren in dem Pudding zu finden, der 6,50% Magermilchpulver und 4,44% modifizierte Stärke enthielt (vgl. Kapitel 4.1.6.3). Die Mayonnaise enthielt zusätzlich zu den 4,48% Eigelb noch 2,59% modifizierte Stärke (vgl. Kapitel 4.1.6.2), die eine weitere Stabilisierung der Mayonnaise bewirkt. Die geringste Menge an Emulgatoren und Stabilisatoren befand sich demnach in dem

Frischkäse, der neben den Milchproteinen des Käsebruchs (21,6%) nur 0,47% zusätzliches Natriumcaseinat enthielt (vgl. Kapitel 4.1.6.1). Der Gehalt an Emulgatoren und Stabilisatoren einer Emulsion ist ein Maß für die Stabilität der Grenzflächen und die Zugänglichkeit der inneren Phase für die Verdauungsenzyme, d.h. wie viel α -Tocopherol aus der dispersen Phase gelöst werden kann. Damit kann hier eine weitere Erklärung für die höchste Absorptionsrate des α -Tocopherols aus dem Frischkäse sowie für die bessere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus der Mayonnaise gegenüber der aus dem Pudding gesehen werden.

In der nachfolgenden Studienphase III wurde das Prüflebensmittel mit der größten Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol (Frischkäse) lebensmitteltechnologisch modifiziert, indem die Partikelgröße über eine Variation der Scherbelastung während der Herstellung verändert wurde. Dabei entstanden eine Emulsion mit einer größeren und eine Emulsion mit einer kleineren Partikelgröße als die des Frischkäses mit der Standardrezeptur. Theoretisch haben kleinere Emulsionspartikel eine größere Oberfläche und bieten damit den Verdauungsenzymen mehr Angriffsfläche, was zu einer vermehrten Absorption von α -Tocopherol führen könnte. In der derzeitigen Literatur sind bereits Kinetikstudien mit dieser Fragestellung durchgeführt worden, die jedoch keine einheitliche Aussage hinsichtlich der Beziehung zwischen der Partikelgröße und der Höhe der Absorption ergaben [Borel et al. 2001; Hayes et al. 2001; Wajda et al. 2007]. In der vorliegenden Studienphase sollte mittels einer Kurzzeitkinetik überprüft werden, ob zum einen die Absorptionsrate von α -Tocopherol durch eine Veränderung der Partikelgröße gesteigert werden kann und zum anderen ob zwischen der Partikelgröße einer Emulsion und der Höhe der Absorption ein linearer Zusammenhang besteht. In unserer Untersuchung konnte der Zusammenhang zwischen der Bioverfügbarkeit und der Partikelgröße bestätigt werden. Allerdings konnte, wie die Daten zeigen, die Absorptionsrate durch die Modifikation der Partikelgröße gegenüber der Standardrezeptur nicht weiter gesteigert werden.

Während in zwei der Vergleichsstudien ebenfalls ein linearer Zusammenhang zwischen der Größe der Fetttropfen und der Höhe der Absorption des α -Tocopherols nachgewiesen [Hayes et al. 2001; Wajda et al. 2007] wurde, konnte dagegen in einer anderen Untersuchung von Borel et al. [2001] kein Unterschied der Bioverfügbarkeit von Vitamin E zwischen einer groben ($10,1 \pm 0,9 \mu\text{m}$) und einer feinen Dispersion ($0,7 \pm 0,2 \mu\text{m}$) festgestellt werden. Die Autoren der letztgenannten Studie gaben für den nicht nachweisbaren Effekt der Emulsionsgröße folgende Erklärungen: Zum einen könnten die Emulsionspartikel bereits im Magen soweit mechanisch zerkleinert worden sein, dass sich die Partikelgröße im Duodenum nicht mehr signifikant unterschied und somit keinen Effekt auf die Bioverfügbarkeit hatte. Zum anderen ist die Lipidabsorptionsrate mit >95% so

effektiv, dass ein denkbarer Effekt auf die Absorption von Vitamin E durch die Partikelgröße nicht mehr ins Gewicht fällt [Borel et al. 2001]. Die Daten unserer Untersuchung und die der genannten Studien legen den Schluss nahe, dass die als effektiv geltende Lipidabsorptionsrate durchaus gesteigert werden kann und die Emulsionspartikel durch die mechanische Verdauung in Mund und Magen nur teilweise aufgebrochen werden.

In der letzten Studienphase IV unserer Untersuchungen sollten zum einen ein möglicher Einfluss des pH-Wertes und zum anderen ein eventueller Effekt durch die Trocknung der Emulsion auf die Höhe der Absorption überprüft werden. Mit dem Einsatz der isolierten Emulsionen galt es zu überprüfen, ob sie in verkapselter Form als Nahrungsergänzungsmittel mit einer nachgewiesenen hohen Absorptionsrate vermarktet werden können. In dieser Studienphase zeichnete sich ab, dass bei den ungetrockneten Emulsionen der niedrigere pH-Wert 4,5 zu einer höheren Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol führte als der höhere pH-Wert von 6,5. Dies konnte bei dem Vergleich der getrockneten Emulsionen nicht bestätigt werden, allerdings ist hier die Trocknung des Produkts als zusätzlicher Einflussfaktor zu berücksichtigen. Eine Begründung für die höhere Absorptionsrate von α -Tocopherol bei dem niedrigeren pH-Wert kann darin gesehen werden, dass dieser wie oben beschrieben im Bereich des physiologischen pH-Wert des Duodenums liegt. Dies kann zu einer frühzeitigen Freisetzung des Cholecystokinins führen [Carey et al. 1983; DeNigris et al. 1985], wodurch das Pankreassekret ebenfalls eher und auch vermehrt sezerniert wird, womit mehr Lipide und α -Tocopherol aus der Matrix gelöst und absorbiert werden können. Zur vollständigen Abklärung eines möglichen Einflusses des pH-Wertes auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Emulsionen sind allerdings noch weitere Untersuchungen notwendig, da die vorliegenden Studien die ersten zu dieser Fragestellung darstellen.

Die von uns verwendeten Emulsionen enthielten als Emulgator Natriumcaseinat. Bei diesen liegt der isoelektrische Punkt bei einem pH-Wert von 4,6-4,8. Am isoelektrischen Punkt weisen Proteinfractionen nach außen hin keine Ladung auf und sind damit apolar sowie schlecht wasserlöslich [Belitz et al. 2008, S. 525ff]. Somit fallen die Proteinfractionen bei einem pH-Wert am isoelektrischen Punkt aus und können sich aufgrund der Apolarität einerseits mit den Lipidtröpfchen der Emulsion verbinden und andererseits die wässrige Phase abstoßen. Dies führt zu einer Stabilisierung der Emulsion, wenn diese einen pH-Wert am isoelektrischen Punkt hat. Bei den hier eingesetzten Emulsionen war daher zu erwarten, dass die Emulsion mit dem pH-Wert von 4,5 stabiler ist als die Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5. Dies sollte zu einer besseren Bioverfügbarkeit des α -Tocopherol aus der weniger stabilen Emulsion mit dem pH-Wert von 6,5 führen, was hier nicht nachgewiesen werden konnte. Somit scheint die Stabilität der Grenzflächen

einen stärkeren Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zu haben, als der pH-Wert der Emulsion.

Die Trocknung der Emulsionen schien eher zu einer Verringerung der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten zu führen. So wiesen die getrockneten Emulsionen im Vergleich zu den ungetrockneten jeweils einen niedrigeren AUC auf. Auch im Gesamtvergleich aller vier Emulsionen konnte dargestellt werden, dass aus den ungetrockneten Emulsionen mehr α -Tocopherol absorbiert wurde als aus den getrockneten. Zur endgültigen Klärung dieser Frage sind auch hier weiterführende Untersuchungen erforderlich, da bisher noch keine vergleichbaren Studien zu dieser Fragestellung in der derzeitigen Literatur vorliegen.

Bei dem Vergleich aller Prüfprodukte in der Studienphase IV zeichnete sich ab, dass die ungetrocknete Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert 4,5 die größte Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol gewährleistete. Die lebensmitteltechnologischen Charakteristika der ungetrockneten Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert 4,5 entsprachen weitestgehend denen des in den ersten Studienphasen eingesetzten Frischkäses. Dies lässt vermuten, dass die Standardrezeptur des Frischkäses damit die idealen Voraussetzungen für eine hohe Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols mitbringt. Zur Überprüfung dieser Fragestellung sollte ein statistischer Vergleich der prozentualen Änderungen der Serumkonzentrationen des Frischkäses der Studienphase I sowie II und der Emulsion der Studienphase IV durchgeführt werden, was im vorliegenden Fall nicht möglich ist, da in den einzelnen Studienphasen unterschiedliche Kollektive eingesetzt wurden, die statistisch nicht miteinander vergleichbar sind. In nachfolgenden Untersuchungen sollten die entsprechenden Voraussetzungen geschaffen werden, um zu prüfen, ob der Frischkäse oder die Emulsion mit den gleichen lebensmitteltechnologischen Charakteristika eine höhere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aufweist. Mit den Daten dieser Untersuchung könnte geklärt werden, ob ein fortifiziertes Lebensmittel oder ein Nahrungsergänzungsmittel geeignet ist, den α -Tocopherol-Status langfristig zu erhöhen.

6.3.2 Aussagekraft technologischer Parameter

Abschließend erfolgt die Beurteilung der Aussagekraft der technologischen Parameter hinsichtlich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten. Nach der Betrachtung der biokinetischen und technologischen Daten der einzelnen Studienphasen scheint lediglich der Verteilungskoeffizient eine Aussage bezüglich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten zuzulassen. Hier konnte über alle Studienphasen ein realistischer Zusammenhang zwischen den Daten des Verteilungskoeffizienten und der Höhe der Absorption festgestellt werden. Darüber hinaus war der

Parameter geeignet, die Verteilung des α -Tocopherols in der Öl- und Wasserphase der Emulsion zu bestimmen. Der Bezug zur Bioverfügbarkeit ist darin zu sehen, dass der Anteil des sich in der Ölphase befindlichen α -Tocopherols mit der Höhe des absorbierten α -Tocopherols korreliert. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die gleichzeitige Anwesenheit von freien Fettsäuren für die Absorption des α -Tocopherols ausschlaggebend ist, die in der Wasserphase nicht gegeben ist.

Anhand der Daten der weiteren technologischen Parameter konnte keine Beziehung zu der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten hergestellt werden. Sie dienten somit allein der lebensmitteltechnologischen Charakterisierung der Prüflebensmittel. So konnte mittels der Partikelgrößenverteilung die Größe der spezifischen Grenzfläche bestimmt werden. Diese korrelierte nicht wie vermutet mit der Höhe der Absorption, was vermutlich darin begründet liegt, dass die Emulsion durch die mechanische Verdauung im Mund und Magen bereits aufgebrochen wird [Hahn et al. 2006, S. 29], womit die unterschiedliche Größe der spezifischen Grenzflächen der Prüfprodukte relativiert wird.

Aus der Emulsionsstabilität konnten Rückschlüsse auf die Haltbarkeit der Prüfprodukte über sieben Tage gezogen werden, die in der vorliegenden Studie irrelevant für die Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols war, da die Prüfprodukte unmittelbar hergestellt und verzehrt wurden. Zur Bestimmung einer möglichen Beziehung zwischen der Haltbarkeit von Lebensmitteln und der Höhe der Absorption von α -Tocopherol aus diesen, sollte ein Lagerungsversuch in Kombination mit Biokinetikstudien durchgeführt werden. Dabei muss darauf geachtet werden, dass die eingesetzten Produkte hygienisch und mikrobiologisch einwandfrei sind.

Auch der extrahierbare Fettanteil zeigte keinen Zusammenhang zur Höhe der Absorption. Aus diesen Daten konnte lediglich die Durchlässigkeit der Grenzfläche für unpolare Lösungsmittel abgeleitet werden, welche nicht mit der Angreifbarkeit der dispersen Phase für die Verdauungsenzyme gleichgesetzt werden kann. Der Anteil der freien Fettsäuren, die aus dem Prüfprodukt experimentell extrahiert werden konnten, entsprach damit nicht der Höhe der Absorption von α -Tocopherol durch die Verdauungsenzyme.

Über die Strukturcharakterisierung und die Oberflächentopographie wurde die Verteilung und Form der Protein- und Fettpartikel in der Emulsion bestimmt. Diese standen wiederum nicht in Zusammenhang mit der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol, da wie bei der spezifischen Grenzfläche die strukturellen Charakteristika der Emulsion bereits in Mund und Magen durch die mechanischen Verdauungsvorgänge aufgebrochen werden, so dass diese für die Absorption des α -Tocopherols im Dünndarm nicht bedeutend sind. Dieser Zusammenhang ist ebenfalls bei der Rheologie der Prüfprodukte zu sehen, die

Aussagen über die sensorischen Eigenschaften der Lebensmittel zulassen, jedoch keine zur Höhe der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol.

6.4 Schlussbetrachtung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene emulsionsbasierte Modelllebensmittel und isolierte Emulsionen mit α -Tocopherol angereichert und dessen Bioverfügbarkeit bestimmt. Ziel dabei war es, die Bioverfügbarkeit über eine Modifikation der Lebensmittelmatrix weitestgehend zu optimieren. Daraus ergaben sich mehrere Studienphasen, in denen jeweils auf Grundlage der Ergebnisse aus der vorhergehenden Studienphase die Matrix technologisch modifiziert wurde und die Bioverfügbarkeit des α -Tocopherol erneut bestimmt wurde. Darüber hinaus sollte der Frage nachgegangen werden, inwieweit die technologischen Charakteristika der Lebensmittelmatrizes Rückschlüsse auf die Bioverfügbarkeit von fettlöslichen Substanzen aus Emulsionen zulassen. Diese vergleichende Analyse wurde im Rahmen dieser Arbeit erstmals für Vitamin E durchgeführt, so dass praktisch keine entsprechende Literatur zum Vergleich herangezogen werden konnte.

Die Ergebnisse aller Studienphasen erlauben insgesamt die Aussage, dass von den drei anfangs eingesetzten Prüfprodukten (Pudding, Frischkäse, Mayonnaise) der Frischkäse sowohl kurz- als auch langfristig die höchste Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol gewährleistet. Dabei war die Höhe der Absorption von α -Tocopherol durch eine Modifikation der Partikelgröße nicht weiter optimierbar; es konnte jedoch ein inverser Zusammenhang zwischen der Größe der Lipidpartikel und der Höhe der Absorption nachgewiesen werden. Darüber hinaus führten weitere Abwandlungen der Standardrezeptur des Frischkäses (pH-Wert, Trocknung) zu keiner weiteren Verbesserung der Bioverfügbarkeit.

Zur Entwicklung eines mit α -Tocopherol fortifizierten Lebensmittels mit einer nachgewiesenen hohen Bioverfügbarkeit sind weitere Untersuchungen vorstellbar. In diesen sollte überprüft werden, ob eine zusätzliche Erhöhung der Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols möglich ist. Dabei wäre die Ermittlung einer Dosis-Wirkungsbeziehung denkbar, bei der in einer Biokinetikuntersuchung im Cross-over-Design Frischkäse mit gestaffelten Dosierungen an α -Tocopherol sowie verschiedenen Lipidgehalten verabreicht werden. Damit kann das ideale Verhältnis von α -Tocopherol zu Fett, welches die höchste Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol garantiert, bestimmt werden. Neben den mit gesundheitsfördernden Nährstoffen angereicherten Lebensmitteln wird auch der Markt für Nahrungsergänzungsmittel immer mehr ausgeweitet. Hier sind die in der Studienphase IV eingesetzten Prüfprodukte von Interesse. Zur Entwicklung eines entsprechenden Supplements sollten in einer Biokinetikstudie überprüft werden, inwieweit sich die Höhe

der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zwischen dem Frischkäse und den Emulsionen unterscheidet und ob die Emulsionen eine höhere Absorption von α -Tocopherol gewährleisten als entsprechend dosierte Nahrungsergänzungsmittel, die bereits auf dem Markt erhältlich sind. Das Ziel bei diesen Untersuchungen sollte immer sein, ein Produkt mit einer nachgewiesenen hohen Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol zu entwickeln, das geeignet ist, den Vitamin-E-Status der Bevölkerung langfristig zu erhöhen. Darüber hinaus sollten, ergänzend zu der Arbeit von Maldonado-Valderrama et al. [2009] zum β -Lactoglobulin, die Eigenschaften der weiteren in den Prüfprodukten als Emulgator eingesetzten Proteine unter physiologischen Bedingungen untersucht werden. Eine simulierte Verdauung der Prüfprodukte mit der gleichzeitigen Bestimmung der technologischen Eigenschaften während der Verdauung könnte ebenfalls durchgeführt werden. Mit Hilfe dieser experimentellen Untersuchungen, sind weitere Rückschlüsse auf die Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols aus den Prüfprodukten möglich.

7 Zusammenfassung

Das fettlösliche Vitamin E umfasst alle Tocol- und Tocotrienolderivate, die qualitativ die gleiche biologische Wirkung wie das natürliche RRR- α -Tocopherol aufweisen [Jensen und Lauridsen 2007, S. 283]. Vitamin E ist im menschlichen Stoffwechsel an zahlreichen biochemischen und zellbiologischen Prozessen beteiligt. Die wichtigste Funktion erfüllt es als Antioxidans, indem es unter anderem die mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Zellmembranen vor Lipidperoxidation durch freie Radikale schützt. Darüber hinaus kann Vitamin E antiatherogen, immunmodulatorisch, antiinflammatorisch, antithrombotisch sowie neuroprotektiv wirken [Kamal-Eldin und Appelqvist 1996; Schneider 2005]. Aufgrund seiner vielfältigen Funktionen wird derzeit die Bedeutung einer ausreichenden Versorgung für die Prävention ernährungsassoziierter Erkrankungen, vor allem des kardiovaskulären Formenkreises, diskutiert [Packer 1991; Traber und Sies 1996]. Die Prävalenz dieser Erkrankungen nimmt stetig zu, so dass sie in Präventionsprogrammen bereits eine vorrangige Stellung einnehmen [WHO 2003].

Die Empfehlungen für eine ausreichende Zufuhr liegen für Erwachsene bei 12-15 mg RRR- α -Tocopherol pro Tag [Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al. 2000, S. 87]. Eine Vitamin-E-Aufnahme in dieser Höhe lässt sich alimentär nur über die Zufuhr von pflanzlichen Fetten realisieren [Souci et al. 2008]. In Deutschland sowie in den USA ist, gemessen an den Zufuhrempfehlungen, durchschnittlich von einer zu geringen Versorgung der Bevölkerung mit Vitamin E auszugehen [Beitz et al. 2002; Deutsche Gesellschaft für Ernährung 2004, S. 38f; Food and Nutrition Board 2000, S. 507]. Zur Optimierung der Vitamin-E-Versorgung bietet es sich an, mit Vitamin E fortifizierte Lebensmittel einzusetzen, aus denen das Vitamin E gut bioverfügbar ist. Die Höhe der Bioverfügbarkeit von Vitamin E wird von vielfältigen Faktoren beeinflusst. Sie hängt, wie Studien gezeigt haben, neben individuellen Unterschieden unter anderem vom jeweiligen Isomer, der Lebensmittelmatrix, der gleichzeitigen Zufuhr von Fetten und der Art der hierin enthaltenen Fettsäuren ab [Borel 2003; Cohn 1997; Lodge et al. 2004].

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Vitamin E angereicherte, emulsionsbasierte Modelllebensmittel und isolierte Emulsionen technologisch so zu entwickeln und zu optimieren, dass das enthaltene Vitamin E eine möglichst hohe Bioverfügbarkeit aufwies. Als Folge dieses Optimierungsprozesses ergaben sich vier aufeinander folgende Studienphasen. In diesen wurden jeweils die Prüfprodukte lebensmitteltechnologisch modifiziert und die Bioverfügbarkeit von Vitamin E mittels Biokinetikuntersuchungen bestimmt. In den nachfolgenden Studienphasen erfolgte jeweils eine aktuelle Anpassung des Studiendesigns aufgrund der erhobenen Daten der vorhergehenden Untersuchungen. Darüber hinaus sollte überprüft werden, ob von den Daten der Parameter zur

technologischer Charakterisierung der Prüflebensmittel Aussagen hinsichtlich der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Produkten abgeleitet werden konnten.

Die Prüfprodukte wurden pro Portion jeweils mit 60 mg RRR- α -Tocopherol angereichert und auf den Lipidgehalt (5 g) standardisiert. Vor dem Hintergrund des Ziels dieser Arbeit wurden Lebensmittel eingesetzt, die üblicherweise im Rahmen einer durchschnittlichen Ernährungsweise verzehrt werden. Des Weiteren wurden die Prüfprodukte mit einem einzelnen Vitamin-E-Derivat (RRR- α -Tocopherol) angereichert, um Einflüsse auf die Bioverfügbarkeit durch andere Vitamin-E-Verbindungen [Wolf 2006] auszuschließen. RRR- α -Tocopherol erwies sich als das geeignete Vitamer, da es zum einen die höchste Absorptionsrate und zum anderen die größte biologische Aktivität der Vitamin-E-Derivate aufweist [Lodge 2005].

Vitamin E wird zusammen mit anderen lipidlöslichen Substanzen (freien Fettsäuren, Cholesterin etc.) im Dünndarm absorbiert [Combs 2008, S. 184f], was den gleichzeitigen Verzehr von Fett erfordert. Nach Untersuchungen von Wolf [2007] erhöht sich die Absorptionsrate von Vitamin E mit jedem Gramm gleichzeitig aufgenommenem Fett um 0,43 mg. Eine weitere Studie unterstützt diesen Befund, in der nachgewiesen wurde, dass bei der gleichzeitigen Aufnahme von 150 mg RRR- α -Tocopherol-Acetat und einer geringen Menge von Fett (0 g bzw. 2,5 g) die Vitamin-E-Plasmaspiegel nicht ansteigen, während sie bei der Aufnahme einer höheren Menge an Fett (17,5 g) signifikant erhöht werden [Jeanes et al. 2004]. Aufgrund dieser Einflussfaktoren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E wurden die Fettmenge in den Prüfprodukten (5 g) sowie die der Mahlzeit (30 g), in deren Rahmen die Prüfprodukte verzehrt wurden, standardisiert. Damit war eine ausreichende Menge Fett zur Gewährleistung der vollständigen Absorption des in der Mahlzeit enthaltenen α -Tocopherols vorhanden.

Die eingesetzte Menge von 60 mg RRR- α -Tocopherol pro Portion war einerseits entsprechend den Empfehlungen für eine Verbesserung der Versorgungssituation geeignet, andererseits waren bei dieser Dosierung keine Nebenwirkungen über eine Überdosierung zu erwarten. Die verabreichte Menge lag zwar über den für Erwachsene empfohlenen 12-15 mg pro Tag [Deutsche Gesellschaft für Ernährung et al. 2000, S. 87], wurde in den Kurzzeitkinetiken aber nur an einem Tag in der Woche verabreicht. Auch in der Langzeitkinetik-Untersuchung über 28 Tage wurden keine toxikologisch relevanten Mengen erreicht. Der Tolerable Upper Intake Level (UL) ist für Erwachsene für α -Tocopherol festgelegt auf 1000 mg pro Tag [Food and Nutrition Board 2000, S. 249ff].

Die vier Studienphasen dieser Arbeit umfassten zunächst zwei Studienphasen, in denen der mögliche Einfluss der Lebensmittelmatrix auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol überprüft wurde. Dazu wurde eine Kurzzeitkinetik über 24 Stunden durchgeführt, bei der

die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus Pudding, Frischkäse und Mayonnaise bestimmt und miteinander verglichen wurde. Zur Differenzierung der Ergebnisse der ersten Studienphase wurden in der zweiten Studienphase eine Kurzzeitkinetik- sowie eine Langzeitkinetik-Untersuchung über 28 Tage durchgeführt. Bei diesen wurde die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse mit der aus der Mayonnaise verglichen. Wie später beschrieben wies in der ersten Studienphase das α -Tocopherol aus dem Pudding mit Abstand die geringste Bioverfügbarkeit auf und war daher aufgrund der Zielsetzung dieser Arbeit für die weiteren Untersuchungen nicht geeignet.

In der nachfolgenden Studienphase III sollte überprüft werden, ob die Partikelgröße der Fetttropfen einen Effekt auf die Höhe der Absorption von α -Tocopherol ausübt. Der Frischkäse wurde hinsichtlich seiner Partikelgröße variiert und die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten in einer Kurzzeitkinetik ermittelt. Dabei wurden ein Frischkäse mit der Standardpartikelgröße sowie je einer mit kleineren und einer mit größeren Partikeln eingesetzt. Die Untersuchung wurde aufgrund der Annahme durchgeführt, dass kleinere Partikel eine größere Oberfläche besitzen, wodurch für die Verdauungsenzyme eine größere Angriffsfläche vorliegt und somit mehr α -Tocopherol zusammen mit den Fettsäuren aus der Matrix gelöst und absorbiert werden kann. Diese Theorie wurde sowohl in Human- als auch in Tierstudien bestätigt [Wajda et al. 2007; Baldi et al. 1997], wobei auch Untersuchungen durchgeführt wurden, die keinen Zusammenhang zwischen der Partikelgröße und der aufgenommenen Menge von Vitamin E belegen konnten [Borel et al. 2001].

In der vierten Studienphase sollten ein möglicher Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten über zum einen den pH-Wert und zum anderen die Trocknung der Produkte überprüft werden. Dazu wurden die Lipidemulsionen des Frischkäses mit einem pH-Wert von 6,5 und einem pH-Wert von 4,5 sowie beide in getrockneter Form eingesetzt. In dieser Studienphase galt es zu prüfen, ob das Vitamin E mit einer entsprechend hohen Bioverfügbarkeit als Nahrungsergänzungsmittel in verkapselter Form verabreicht werden könnte.

In den Kinetikuntersuchungen wurde die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten anhand der Verläufe der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen über die Zeit, der Fläche unter der Serumkonzentration-Zeit-Kurve (area under the concentration/time curve, AUC), der maximalen Serumkonzentration sowie der Zeit bis zum Erreichen der maximalen Serumkonzentration bestimmt. Die Ergebnisse der biokinetischen Parameter wurden anschließend mit den Daten der technologischen Parameter der Prüfprodukte abgeglichen. Zur Charakterisierung der Prüfprodukte wurden der Verteilungskoeffizient, die Partikelgrößenverteilung, die Emulsionsstabilität, der extrahierbare Fettanteil, die Oberflächenstruktur sowie die Rheologie der Prüfprodukte analysiert.

In der Studienphase I wurde eine signifikant bessere Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus dem Frischkäse und der Mayonnaise gegenüber der aus dem Pudding festgestellt. Darüber hinaus stiegen die α -Tocopherol-Serumspiegel nach dem Verzehr des Frischkäses höher an als nach der Aufnahme der Mayonnaise. In der nachfolgenden Studienphase II erwies sich in der Langzeitkinetik-Untersuchung der Frischkäse als signifikant besser geeignet, die α -Tocopherol-Serumspiegel langfristig zu erhöhen, als die Mayonnaise. Die langfristig höheren Serumspiegel durch den Verzehr des Frischkäses erklären sich damit, dass täglich pro Portion jeweils mehr α -Tocopherol aus dem Frischkäse als aus der Mayonnaise aufgenommen wurde, wie die Daten der Kurzzeitkinetik-Untersuchung gezeigt haben. Die Serumkonzentrationen an α -Tocopherol stiegen in der Langzeitkinetikuntersuchung zunächst bei beiden Prüfprodukten an und blieben nach etwa einer Woche auf einem annähernd konstanten Niveau. Somit sind die Serumspiegel von α -Tocopherol bei einer chronischen Aufnahme nicht unendlich steigerbar.

Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den in den Studienphasen I und II eingesetzten Prüfprodukten sind über die spezifischen Lebensmittelmatrizes erklärbar, die sich bei den verwendeten Emulsionen vor allem in den grenzflächenbildenden Emulgatoren unterschieden. Die Grenzflächen der Mayonnaise werden von dem Protein-Phospholipid-Komplex des Eigelbs gebildet, während die des Frischkäses vom Casein und die des Puddings vom Casein und Molkenprotein der Milch ausgebildet werden [Bindrich 2007]. Bei den vorliegenden Prüfprodukten wurden vor allem in dem Pudding aber auch in der Mayonnaise durch die zusätzlich enthaltene Stärke sehr stabile Grenzflächen ausgebildet, wohingegen die Frischkäseemulsion durch die Einlagerung von Lipidtropfen zur Erhöhung der Cremigkeit destabilisiert wurde (vgl. Kapitel 4.1.6). Die Stabilität der Emulsion kann als Maß dafür gesehen werden, in welchem Umfang die Verdauungsenzyme an die disperse Phase und das darin enthaltene α -Tocopherol gelangen und es damit absorbiert werden kann.

In der Studienphase III konnte ein inverser Zusammenhang zwischen der Partikelgröße und der Höhe der Absorption von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten nachgewiesen werden. Dies entspricht der Theorie die besagt, dass mit abnehmender Partikelgröße die Oberfläche und damit die Angriffsfläche für die Verdauungsenzyme vergrößert wird, womit vermehrt α -Tocopherol aus der Emulsion gelöst und anschließend absorbiert werden kann. Über die Variation der Größe der Emulsionstropfen konnte jedoch die Höhe der Absorption von α -Tocopherol im Vergleich zu dem ursprünglich eingesetzten Frischkäse der Studienphasen I und II kaum gesteigert werden. Somit kann der Frischkäse nach der Standardrezeptur als optimal für die Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols eingestuft werden.

In der Studienphase IV konnte nicht eindeutig geklärt werden, ob der pH-Wert einen Einfluss auf die Absorption des α -Tocopherols hatte. Es scheint jedoch, dass ein niedrigerer pH-Wert die Bioverfügbarkeit des α -Tocopherols aus den Prüfprodukten erhöht. Bei den ungetrockneten Emulsionen zeichnete sich ab, dass aus der Emulsion mit dem niedrigen pH-Wert von 4,5 mehr α -Tocopherol absorbiert wurde. Der pH-Wert dieser Emulsion lag im Bereich des physiologischen pH-Wertes des Dünndarms und stellte damit optimale Bedingungen für die Freisetzung von Cholecystokinin dar, welches die Sekretion des Pankreassekrets auslöst und damit zur Lipidverdauung maßgeblich beiträgt [Carey et al. 1983; DeNigris et al. 1985]. Bei einem pH-Wert des Chymus, der bereits im physiologischen Bereich liegt, kann somit eher und damit mehr α -Tocopherol aus der Matrix gelöst und absorbiert werden. Um diesen möglichen Effekt auf die Absorption von α -Tocopherol näher zu bestimmen, sollten noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden. In Bezug auf einen möglichen Einfluss durch die Trocknung der Emulsionen auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol, erschienen im Gesamtvergleich die ungetrockneten Emulsionen bessere Voraussetzungen aufzuweisen, um mehr α -Tocopherol zu absorbieren. Somit scheint eine Trocknung der Lipidemulsion die Absorptionsrate von α -Tocopherol zu senken. Zur endgültigen Klärung dieser Frage sind ebenfalls weiterführende Untersuchungen erforderlich.

Die in den Untersuchungen verwendeten technologischen Parameter waren weitestgehend nur zur Charakterisierung der Emulsionen geeignet, von ihnen konnten keine direkten Aussagen zur Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol aus den Prüfprodukten abgeleitet werden. Lediglich über den Verteilungskoeffizienten war über alle Studienphasen ein Zusammenhang zwischen der anteiligen Verteilung der Lipide in den verschiedenen Phasen der Emulsion und der Höhe der Absorption feststellbar.

Abschließend erlauben die Daten dieser Arbeit folgende Schlüsse:

- von den ursprünglich verwendeten mit α -Tocopherol angereicherten Prüfprodukten (Frischkäse, Mayonnaise, Pudding), wies das α -Tocopherol aus dem Frischkäse sowohl kurz- als auch langfristig die höchste Bioverfügbarkeit auf;
- die Höhe der Absorption von α -Tocopherol aus dem Frischkäse stand in inversem Zusammenhang mit der Partikelgröße, konnte jedoch über die Variation der Partikelgröße gegenüber der Standardrezeptur kaum gesteigert werden;
- der pH-Wert der Prüfprodukte hatte einen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol, die genauen Ursachen dafür konnten in dieser Arbeit nicht genau geklärt werden und in Folgestudien noch näher bestimmt werden;

-
- durch die Trocknung der Emulsionen wurde die Bioverfügbarkeit von α -Tocopherol gesenkt, womit dem potentiellen Vorteil einer verbesserten Haltbarkeit der Emulsionen der Nachteil einer verminderten Bioverfügbarkeit gegenübersteht;
 - insgesamt wies der Frischkäse aufgrund seiner lebensmitteltechnologischen Charakteristika (Emulsionsstabilität, pH-Wert) die besten Voraussetzungen für eine hohe Absorptionsrate von α -Tocopherol auf.

8 Literaturverzeichnis

- Acuff RV, Thedford SS, Hidioglou NN, Papas AM, Odom TA Jr. Relative bioavailability of RRR- and all-rac-alpha-tocopheryl acetate in humans: studies using deuterated compounds. *Am J Clin Nutr.* 1994;60(3):397-402.
- Adam O. Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. In: Biesalski HK, Fürst P, Kasper H, Kluthe R, Pöler W, Puchstein C, Stähelin HB. *Ernährungsmedizin. Nach dem Curriculum Ernährungsmedizin der Bundesärztekammer.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2004:575-584.
- Ahuja JK, Goldman JD, Moshfegh AJ. Current status of vitamin E nutriture. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1031:387-390.
- Albanes D, Malila N, Taylor PR, Huttunen JK, Virtamo J, Edwards BK, Rautalahti M, Hartman AM, Barrett MJ, Pietinen P, Hartman TJ, Sipponen P, Lewin K, Teerenhovi L, Hietanen P, Tangrea JA, Virtanen M, Heinonen OP. Effects of supplemental alpha-tocopherol and beta-carotene on colorectal cancer: results from a controlled trial (Finland) *Cancer Causes Control.* 2000;11(3):197-205.
- Amorati R, Ferroni F, Lucarini M, Pedulli GF, Valgimigli L. A quantitative approach to the recycling of alpha-tocopherol by coantioxidants. *J Org Chem.* 2002;67(26):9295-9303.
- Anderson TW, Reid DB. A double-blind trial of vitamin E in angina pectoris. *Am J Clin Nutr.* 1974;27(10):1174-1178.
- Anwar K, Iqbal J, Hussain MM. Mechanisms involved in vitamin E transport by primary enterocytes and in vivo absorption. *J Lipid Res.* 2007;48(9):2028-2038.
- Armand M, Borel P, Dubois C, Senft M, Peyrot J, Salducci J, Lafont H, Lairon D. Characterization of emulsions and lipolysis of dietary lipids in the human stomach. *Am J Physiol.* 1994;266(3 Pt 1):G372-G381.
- Armand M, Borel P, Pasquier B, Dubois C, Senft M, Andre M, Peyrot J, Salducci J, Lairon D. Physicochemical characteristics of emulsions during fat digestion in human stomach and duodenum. *Am J Physiol.* 1996;271(1 Pt 1):G172-G183.
- Armand M, Pasquier B, André M, Borel P, Senft M, Peyrot J, Salducci J, Portugal H, Jaussan V, Lairon D. Digestion and absorption of 2 fat emulsions with different droplet sizes in the human digestive tract. *Am J Clin Nutr.* 1999;70(6):1096-1106.
- Azzi A, Stocker A. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog Lipid Res.* 2000;39(3):231-255.
- Baldi A, Bontempo V, Cheli F, Carli S, Sgoifo Rossi C, Dell'Orto V. Relative bioavailability of vitamin E in dairy cows following intraruminal administration of three different preparations of DL-alpha-tocopheryl acetate. *Vet Res.* 1997;28(6):517-524.
- Baret JC, Kleinschmidt F, El Harrak A, Griffiths AD. Kinetic aspects of emulsion stabilization by surfactants: a microfluidic analysis. *Langmuir.* 2009;25(11):6088-6093.
- Behrens WA, Thompson JN, Madère R. Distribution of alpha-tocopherol in human plasma lipoproteins. *Am J Clin Nutr.* 1982;35(4):691-696.

- Beitz R, Mensink GB, Fischer B, Thamm M. Vitamins--dietary intake and intake from dietary supplements in Germany. *Eur J Clin Nutr.* 2002;56(6):539-545.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie.* Berlin: Springer-Verlag, 2008.
- Bendich A, Machlin LJ. Safety of oral intake of vitamin E. *Am J Clin Nutr.* 1988;48(3):612-619.
- Bieri JG, Wu AL, Tolliver TJ. Reduced intestinal absorption of vitamin E by low dietary levels of retinoic acid in rats. *J Nutr.* 1981;111(3):458-467.
- Bieri JG, Tolliver TJ. Reversal by bile acid on the inhibition of alpha-tocopherol absorption by retinoic acid. *J Nutr.* 1982;112(2):401-403.
- Bindrich U. 1. Jahresbericht, Forschungsverbund Agrar- und Ernährungswissenschaften Niedersachsen (FAEN), Verbundprojekt Netzwerk Lebensmittel, Teilprojekt 10: Produktentwicklung auf der Basis bioaktiver Lebensmittelinhaltsstoffe aus den Teilprojekten 1-8. Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL). 2007:1-20.
- Birringer M, Pfluger P, Kluth D, Landes N, Brigelius-Flohé R. Identities and differences in the metabolism of tocotrienols and tocopherols in HepG2 cells. *J Nutr.* 2002;132(10):3113-3118.
- Bjørneboe A, Bjørneboe GE, Drevon CA. Absorption, transport and distribution of vitamin E. *J Nutr.* 1990;120(3):233-242.
- Blatt DH, Leonard SW, Traber MG. Vitamin E kinetics and the function of tocopherol regulatory proteins. *Nutrition.* 2001;17(10):799-805.
- Borel P, Pasquier B, Armand M, Tyssandier V, Grolier P, Alexandre-Gouabau MC, Andre M, Senft M, Peyrot J, Jaussan V, Lairon D, Azais-Braesco V. Processing of vitamin A and E in the human gastrointestinal tract. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;280(1):G95-G103.
- Borel P. Factors affecting intestinal absorption of highly lipophilic food microconstituents (fat-soluble vitamins, carotenoids and phytosterols). *Clin Chem Lab Med.* 2003;41(8):979-994.
- Bos MA, van Vliet T. Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: a review. *Adv Colloid Interface Sci.* 2001;91(3):437-471.
- Boscoboinik DO, Chatelain E, Bartoli GM, Stäubli B, Azzi A. Inhibition of protein kinase C activity and vascular smooth muscle cell growth by d-alpha-tocopherol. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1224(3):418-426.
- Brigelius-Flohé R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.* 1999;13(10):1145-1155.
- Bron D, Asmis R. Vitamin E and the prevention of atherosclerosis. *Int J Vitam Nutr Res.* 2001;71(1):18-24.
- Bruno RS, Ramakrishnan R, Montine TJ, Bray TM, Traber MG. {alpha}-Tocopherol disappearance is faster in cigarette smokers and is inversely related to their ascorbic acid status. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(1):95-103.

- Bruno RS, Leonard SW, Park SI, Zhao Y, Traber MG. Human vitamin E requirements assessed with the use of apples fortified with deuterium-labeled alpha-tocopheryl acetate. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(2):299-304.
- Bursell SE, King GL. Can protein kinase C inhibition and vitamin E prevent the development of diabetic vascular complications? *Diabetes Res Clin Pract.* 1999;45(2-3):169-182.
- Burton GW, Traber MG, Acuff RV, Walters DN, Kayden H, Hughes L, Ingold KU. Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am J Clin Nutr.* 1998;67(4):669-684.
- Cachia O, Benna JE, Pedruzzi E, Descomps B, Gougerot-Pocidallo MA, Leger CL. alpha-tocopherol inhibits the respiratory burst in human monocytes. Attenuation of p47(phox) membrane translocation and phosphorylation. *J Biol Chem.* 1998;273(49):32801-32805.
- Campanella OH, Peleg M. Analysis of the Transient Flow of Mayonnaise in a Coaxial Viscometer. *J Rheol.* 1987;31:439-452.
- Campbell NA, Reece JB. *Biologie.* Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag GmbH, 2003.
- Carey MC, Small DM, Bliss CM. Lipid digestion and absorption. *Annu Rev Physiol.* 1983;45:651-677.
- Castellani O, David-Briand E, Guérin-Dubiard C, Anton M. Effect of aggregation and sodium salt on emulsifying properties of egg yolk phospholipids. *Food Hydrocolloids.* 2005;19(4):769-776.
- Catignani GL. An alpha-tocopherol binding protein in rat liver cytoplasm. *Biochem Biophys Res Commun.* 1975;67(1):66-72.
- Cavalier L, Ouahchi K, Kayden HJ, Di Donato S, Reutenauer L, Mandel JL, Koenig M. Ataxia with isolated vitamin E deficiency: heterogeneity of mutations and phenotypic variability in a large number of families. *Am J Hum Genet.* 1998;62(2):301-310.
- Chan AC, Wagner M, Kennedy C, Mroske C, Proulx P, Laneuville O, Tran K, Choy PC. Vitamin E upregulates phospholipase A2, arachidonic acid release and cyclooxygenase in endothelial cells. *Akt Ernähr Med.* 1998;23:1-8.
- Cheeseman KH, Holley AE, Kelly FJ, Wasil M, Hughes L, Burton G. Biokinetics in humans of RRR-alpha-tocopherol: the free phenol, acetate ester, and succinate ester forms of vitamin E. *Free Radic Biol Med.* 1995;19(5):591-598.
- Cheng CJ, Chu LY, Xie R. Preparation of highly monodisperse W/O emulsions with hydrophobically modified SPG membranes. *J Colloid Interface Sci.* 2006;300(1):375-382.
- Chow SC, Liu JP. *Design and analysis of bioavailability and bioequivalence studies.* New York: Marcel Dekker, 1992.
- Clevidence BA, Ballard-Barbash R. Tocopherol contents of lipoproteins from frozen plasma separated by affinity chromatography. *Lipids.* 1991;26(9):723-728.

- Clifford AJ, de Moura FF, Ho CC, Chuang JC, Follett J, Fadel JG, Novotny JA. A feasibility study quantifying in vivo human alpha-tocopherol metabolism. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(6):1430-1441.
- Cognis Deutschland GmbH & Co. KG. nutrition & health Covitol® F-1370. Cognis Deutschland GmbH & Co. KG, Düsseldorf, 2007.
- Cohn W, Loechleiter F, Weber F. Alpha-tocopherol is secreted from rat liver in very low density lipoproteins. *J Lipid Res.* 1988;29(10):1359-1366.
- Cohn W, Gross P, Grun H, Loechleiter F, Muller DP, Zulauf M. Tocopherol transport and absorption. *Proc Nutr Soc.* 1992;51(2):179-188.
- Cohn W. Bioavailability of vitamin E. *Eur J Clin Nutr.* 1997;51 Suppl 1:S80-S85.
- Colafemmina G, Palazzo G, Ceglie A, Ambrosone L, Cinelli G, Di Lorenzo V. Restricted diffusion: An effective tool to investigate food emulsions. *Progr Colloid Polym Sci.* 2002;120:23-27.
- Combs GF. *The Vitamins. Fundamental Aspects in Nutrition and Health.* Burlington: Elsevier Academic Press, 2008.
- Corredig M, Dalgleish DG. Effect of different heat treatments on the strong binding interactions between whey proteins and milk fat globules in whole milk. *Journal of Dairy Research.* 1996;63(3):441-449.
- Cuddihy SL, Ali SS, Musiek ES, Lucero J, Kopp SJ, Morrow JD, Dugan LL. Prolonged alpha-tocopherol deficiency decreases oxidative stress and unmasks alpha-tocopherol-dependent regulation of mitochondrial function in the brain. *J Biol Chem.* 2008;283(11):6915-6924.
- Dalgleish DG. Casein Micelles as Colloides: Surface and Stabilities. *J Dairy Sci.* 1998;81:3013-3018.
- Darlington LG, Stone TW. Antioxidants and fatty acids in the amelioration of rheumatoid arthritis and related disorders. *Br J Nutr.* 2001;85(3):251-269.
- Das KP, Kinsella JE. Stability of food emulsions physicochemical role of protein and non-protein emulsifiers. *Adv Food Nutr Res.* 1990;34:181-201.
- de Kruif CG. Casein micelle interactions. *Int Dairy J.* 1999;9:183-188.
- DellaPenna D. A decade of progress in understanding vitamin E synthesis in plants. *J Plant Physiol.* 2005;162:729-737.
- DeNigris SJ, Hamosh M, Kasbekar DK, Fink CS, Lee TC, Hamosh P. Secretion of human gastric lipase from dispersed gastric glands. *Biochim Biophys Acta.* 1985;836(1):67-72.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), Österreichische Gesellschaft für Ernährung (ÖGE), Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung (SGE), Schweizerische Vereinigung für Ernährung (SVE). Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Frankfurt am Main: Umschau Braus GmbH, 2000.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE). Ernährungsbericht 2004. Bonn: Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V., 2004.

- Dickinson E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*. 2003;17:25-39.
- Dieber-Rotheneder M, Puhl H, Waeg G, Striegl G, Esterbauer H. Effect of oral supplementation with D-alpha-tocopherol on the vitamin E content of human low density lipoproteins and resistance to oxidation. *J Lipid Res*. 1991;32(8):1325-1332.
- Dietrich M, Block G, Norkus EP, Hudes M, Traber MG, Cross CE, Packer L. Smoking and exposure to environmental tobacco smoke decrease some plasma antioxidants and increase gamma-tocopherol in vivo after adjustment for dietary antioxidant intakes. *Am J Clin Nutr*. 2003;77(1):160-166.
- Dimitrov NV, Meyer C, Gilliland D, Ruppenthal M, Chenoweth W, Malone W. Plasma tocopherol concentrations in response to supplemental vitamin E. *Am J Clin Nutr*. 1991;53(3):723-729.
- Dimitrov NV, Meyer-Leece C, McMillan J, Gilliland D, Perloff M, Malone W. Plasma alpha-tocopherol concentrations after supplementation with water- and fat-soluble vitamin E. *Am J Clin Nutr*. 1996;64(3):329-335.
- Döring F, Rimbach G, Lodge JK. In silico search for single nucleotide polymorphisms in genes important in vitamin E homeostasis. *IUBMB Life*. 2004;56(10):615-620.
- Dost FH. *Grundlagen der Pharmakokinetik*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1968.
- Dowd P, Zheng ZB. On the mechanism of the anticlotting action of vitamin E α -quinine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(18):8171-8175.
- Drevon CA. Absorption, transport and metabolism of vitamin E. *Free Radic Res Commun*. 1991;14(4):229-246.
- Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):47-95.
- Eichhorn JC, Lee R, Dunster C, Basu S, Kelly FJ. Alpha- and gamma-tocopherol plasma and urinary biokinetics following alpha-tocopherol supplementation. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1031:339-340.
- Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Waeg G, Striegl G, Jürgens G. Biochemical, structural, and functional properties of oxidized low-density lipoprotein. *Chem Res Toxicol*. 1990;3(2):77-92.
- Euston SR, Hirst RL. Comparison of the concentration-dependent emulsifying properties of protein products containing aggregated and non-aggregated milk protein. *Int Dairy J*. 1999;9:693-701.
- Euston SR, Hirst RL, Hill JP. The emulsifying properties of β -lactoglobulin genetic variants A, B and C. *Colloid Surf B: Biointerfaces*. 1999;12:193-202.
- Euston SR, Hirst RL. The emulsifying properties of commercial milk protein products in simple oil-in-water emulsions and in a model food system. *Journal of Food Science*. 2000;65(6):934-940.

- Euston SR, Finnigan SR, Hirst RL. Heat-induced destabilization of oil-in-water emulsions formed from hydrolyzed whey protein. *J Agric Food Chem.* 2001;49(11):5576-5583.
- Fairburn K, Grootveld M, Ward RJ, Abiuka C, Kus M, Williams RB, Winyard PG, Blake DR. Alpha-tocopherol, lipids and lipoproteins in knee-joint synovial fluid and serum from patients with inflammatory joint disease. *Clin Sci (Lond).* 1992;83(6):657-664.
- Fairus S, Nor RM, Cheng HM, Sundram K. Postprandial metabolic fate of tocotrienol-rich vitamin E differs significantly from that of alpha-tocopherol. *Am J Clin Nutr.* 2006;84(4):835-842.
- Fang Y, Dalgleish DG. Conformation of beta-Lactoglobulin Studied by FTIR: Effect of pH, Temperature, and Adsorption to the Oil-Water Interface. *J Colloid Interface Sci.* 1997;196(2):292-298.
- Fechner H, Schlame M, Guthmann F, Stevens PA, Rüstow B. alpha- and delta-tocopherol induce expression of hepatic alpha-tocopherol-transfer-protein mRNA. *Biochem J.* 1998;331(Pt 2):577-581.
- Figoni PI, Shoemaker CF. Characterization of time dependent flow properties of mayonnaise under steady shear. *J Texture Studies.* 1983;14:431-442.
- FitzGerald GA, Brash AR. Endogenous prostacyclin and thromboxane biosynthesis during chronic vitamin E therapy in men. *Ann NY Acad Sci.* 1982;393:209-211.
- Flückiger W. Zur Technologie der Mayonnaise und mayonnaiseähnlichen Emulsionen. *Fette, Seifen, Anstrichmittel.* 1966;68(2):139-145.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes. Washington, DC: National Academy Press, 2000.
- Fruhner H, Wantke KD, Lunkenheimer K. Relationship between surface dilational properties and foam stability. *Colloid Surf A: Physiochem Eng Aspects.* 1999;162:193-202.
- Fujisawa S, Kadoma Y. Kinetic study of the radical-scavenging activity of vitamin E and ubiquinone. *In Vivo.* 2005;19(6):1005-1011.
- Galli F, Stabile AM, Betti M, Conte C, Pistilli A, Rende M, Floridi A, Azzi A. The effect of alpha- and gamma-tocopherol and their carboxyethyl hydroxychroman metabolites on prostate cancer cell proliferation. *Arch Biochem Biophys.* 2004;423(1):97-102.
- Gaygadzhiev Z, Corredig M, Alexander M. The impact of the concentration of casein micelles and whey protein-stabilized fat globules on the rennet-induced gelation of milk. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2009;68(2):154-162.
- Gaziano JM. Vitamin E and cardiovascular disease: observational studies. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1031:280-291.
- Gerhards C. Einführung in die Rheologie von Emulsionen. In: Schubert H. Emulgiertechnik. Grundlagen, Verfahren und Anwendungen. Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2005:85-118.

- Gey KF. Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. *Biofactors*. 1998;7(1-2):113-174.
- Gómez-Coronado D, Entrala A, Alvarez JJ, Ortega H, Olmos JM, Castro M, Sastre A, Herrera E, Lasunción MA. Influence of apolipoprotein E polymorphism on plasma vitamin A and vitamin E levels. *Eur J Clin Invest*. 2002;32(4):251-258.
- Gonzalez-Corbella MJ, Lloberas-Blanch N, Castellote-Bargallo AI, Lopez-Sabater MC, Rivero-Urgell M. Determination of alpha-tocopherol in plasma and erythrocytes by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 1994;660(2):395-400.
- Gotoh N, Watanabe H, Oka T, Mashimo D, Noguchi N, Hata K, Wada S. Dietary marine-derived tocopherol has a higher biological availability in mice relative to alpha-tocopherol. *Lipids*. 2009;44(2):133-143.
- Gould MN, Haag JD, Kennan WS, Tanner MA, Elson CE. A comparison of α -tocopherol and tocotrienol for the chemoprevention of chemically induced rat mammary tumors. *Am J Clin Nutr*. 1991;53(4 Suppl):1068S-1070S.
- Granado-Lorencio F, Herrero-Barbudo C, Blanco-Navarro I, Pérez-Sacristán B, Olmedilla-Alonso B. Bioavailability of carotenoids and alpha-tocopherol from fruit juices in the presence of absorption modifiers: in vitro and in vivo assessment. *Br J Nutr*. 2009;101(4):576-582.
- Guarnieri C, Flamigni F, Caldarera CM. A possible role of rabbit heart cytosol α -tocopherol binding in the transfer of α -tocopherol into nuclei. *Biochem J*. 1980;190(2):469-471.
- Gysin R, Azzi A, Visarius T. Gamma-tocopherol inhibits human cancer cell cycle progression and cell proliferation by down-regulation of cyclins. *FASEB J*. 2002;16(14):1952-1954.
- Hacquebard M, Carpentier YA. Vitamin E: absorption, plasma transport and cell uptake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2005;8(2):133-138.
- Hacquebard M, Vandenbranden M, Malaisse WJ, Ruyschaert JM, Deckelbaum RJ, Carpentier YA. Vitamin e transfer from lipid emulsions to plasma lipoproteins: mediation by multiple mechanisms. *Lipids*. 2008;43(7):663-671.
- Hagemeyer M, Hahn A. The Devil's Alternative. Alternativen zu Nahrungsergänzungsmitteln in der Praxis: Bilanzierte Diäten und andere diätetische Lebensmittel, Funktionelle Lebensmittel und Lebensmittel eigener Art. *StoffR*. 2007;1:2-14.
- Hahn A, Ströhle A, Wolters M. Ernährung. Physiologische Grundlagen, Prävention und Therapie. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2006.
- Hall WL, Jeanes YM, Lodge JK. Hyperlipidemic subjects have reduced uptake of newly absorbed vitamin E into their plasma lipoproteins, erythrocytes, platelets, and lymphocytes, as studied by deuterium-labeled alpha-tocopherol biokinetics. *J Nutr*. 2005;135(1):58-63.
- Harris JA, Benedict FG. A Biometric Study of Human Basal Metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1918;4(12):370-373.

- Hayashi T, Kanetoshi A, Nakamura M, Tamura M, Shirahama H. Reduction of alpha-tocopherolquinone to alpha-tocopherolhydroquinone in rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol.* 1992;44(3):489-493.
- Hayes KC, Pronczuk A, Liang JS. Differences in the plasma transport and tissue concentrations of tocopherols and tocotrienols: observations in humans and hamsters. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1993;202(3):353-359.
- Hayes K, Pronczuk A, Perlman D. Vitamin E in fortified cow milk uniquely enriches human plasma lipoproteins. *Am J Clin Nutr.* 2001;74(2):211-218.
- Heller R, Werner-Felmayer G, Werner ER. Alpha-Tocopherol and endothelial nitric oxide synthesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1031:74-85.
- Herrero-Barbudo C, Olmedilla-Alonso B, Granado-Lorencio F, Blanco-Navarro I. Bioavailability of vitamins A and E from whole and vitamin-fortified milks in control subjects. *Eur J Nutr.* 2006;45(7):391-398.
- Heseker H, Kohlmeier M, Schneider R. Lipid-Adjustierung von α -Tocopherol-Konzentrationen im Plasma. *Z Ernährungswiss.* 1993;32(3):219-228.
- Hidiroglou M. Assessment of the oral administration of a high dose of retinol on vitamin E status of sheep. *Vet Res.* 1993;24(6):477-482.
- Hoppe PP, Krennrich G. Bioavailability and potency of natural-source and all-racemic alpha-tocopherol in the human: a dispute. *Eur J Nutr.* 2000;39(5):183-193.
- Horvath G, Wessjohann L, Bigirimana J, Jansen M, Guisez Y, Caubergs R, Horemans N. Differential distribution of tocopherols and tocotrienols in photosynthetic and non-photosynthetic tissues. *Phytochem.* 2006;67:1185-1195.
- Horwitt MK. Vitamin E and lipid metabolism in man. *Am J Clin Nutr.* 1960;8:451-461.
- Horwitt MK, Century B, Zeman AA. Erythrocyte survival time and reticulocyte levels after peroxidase depletion in man. *Am J Clin Nutr.* 1963;12:99-106.
- Horwitt MK, Harvey CC, Dahm CH Jr, Searcy MT. Relationship between peroxidase and serum lipid levels for determination of nutritional adequacy. *Ann N Y Acad Sci.* 1972;203:223-236.
- Horwitt MK. Status of human requirements for vitamin E. *Am J Clin Nutr.* 1974;27(10):1182-1193.
- Horwitt MK, Harvey CC, Dahm CH Jr. Relationship between levels of blood lipids, vitamins C, A, and E, serum copper compounds, and urinary excretions of tryptophan metabolites in women taking oral contraceptive therapy. *Am J Clin Nutr.* 1975 Apr;28(4):403-12.
- Horwitt MK, Elliott WH, Kanjanangulpan P, Fitch CD. Serum concentrations of alpha-tocopherol after ingestion of various vitamin E preparations. *Am J Clin Nutr.* 1984;40(2):240-245.
- Horwitt MK. Interpretations of requirements for thiamin, riboflavin, niacin-tryptophan, and vitamin E plus comments on balance studies and vitamin B-6. *Am J Clin Nutr.* 1986;44(6):973-985.

- Hosomi A, Arita M, Sato Y, Kiyose C, Ueda T, Igarashi O, Arai H, Inoue K. Affinity for alpha-tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs. *FEBS Lett.* 1997;409(1):105-108.
- Huang HY, Appel LJ. Supplementation of diets with alpha-tocopherol reduces serum concentrations of gamma- and delta-tocopherol in humans. *J Nutr.* 2003;133(10):3137-3140.
- Husband FA, Wilde PJ, Mackie AR, Garrood MJ. A Comparison of the Functional and Interfacial Properties of beta-Casein and Dephosphorylated beta-Casein. *J Colloid Interface Sci.* 1997;195(1):77-85.
- Ikeda I, Imasato Y, Sasaki E, Sugano M. Lymphatic transport of alpha-, gamma- and delta-tocotrienols and alpha-tocopherol in rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 1996;66(3):217-221.
- Ikeda S, Tohyama T, Yoshimura H, Hamamura K, Abe K, Yamashita K. Dietary alpha-tocopherol decreases alpha-tocotrienol but not gamma-tocotrienol concentration in rats. *J Nutr.* 2003;133(2):428-434.
- Ingold KU, Burton GW, Foster DO, Hughes L, Lindsay DA, Webb A. Biokinetics of and discrimination between dietary RRR- and SRR-alpha-tocopherols in the male rat. *Lipids.* 1987;22(3):163-172.
- Itoh S, Nagaoka S, Mukai K. Kinetic study of the tocopherol regeneration reaction by biological hydroquinones in micellar solution. *J Phys Chem A.* 2008;112(3):448-456.
- Iuliano L, Micheletta F, Maranghi M, Frati G, Diczfalusy U, Violi F. Bioavailability of vitamin E as function of food intake in healthy subjects: effects on plasma peroxide-scavenging activity and cholesterol-oxidation products. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(10):E34-E37.
- Izmailova VN, Yampolskaya GP, Tulovskaya ZD. Development of the Reh binder's concept on structure-mechanical barrier in stability of dispersions stabilized by proteins. *Colloids Surf A: Physicochem Eng Aspects.* 1999;160:89-106.
- Janero DR. Therapeutic potential of vitamin E in the pathogenesis of spontaneous atherosclerosis. *Free Radic Biol Med.* 1991;11(1):129-144.
- Jeanes YM, Hall WL, Proteggente AR, Lodge JK. Cigarette smokers have decreased lymphocyte and platelet alpha-tocopherol levels and increased excretion of the gamma-tocopherol metabolite gamma-carboxyethyl-hydroxychroman (gamma-CEHC). *Free Radic Res.* 2004a;38(8):861-868.
- Jeanes YM, Hall WL, Ellard S, Lee E, Lodge JK. The absorption of vitamin E is influenced by the amount of fat in a meal and the food matrix. *Br J Nutr.* 2004b;92(4):575-579.
- Jeanes YM, Hall WL, Lodge JK. Comparative (2)H-labelled alpha-tocopherol biokinetics in plasma, lipoproteins, erythrocytes, platelets and lymphocytes in normolipidaemic males. *Br J Nutr.* 2005;94(1):92-99.
- Jensen SK, Engberg RM, Hedemann MS. All-rac-alpha-tocopherol acetate is a better vitamin E source than all-rac-alpha-tocopherol succinate for broilers. *J Nutr.* 1999;129(7):1355-1360.

- Jensen SK, Lauridsen C. α -Tocopherol Stereoisomers. In: Litwack G. Vitamin E, Volume 76 (Vitamins and Hormones). Burlington: Elsevier Academic Press, 2007:281-308.
- Jialal I, Fuller CJ, Huet BA. The effect of alpha-tocopherol supplementation on LDL oxidation. A dose-response study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15(2):190-198.
- Jones PJH, Kubow S. Lipids, Sterols, and their Metabolites. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Hrsg. *Modern Nutrition in Health and Disease*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006:92-122.
- Kagan VE, Serbinova EA, Forte T, Scita G, Packer L. Recycling of vitamin E in human low density lipoproteins. *J Lipid Res.* 1992;33(3):385-397.
- Kalyanaraman B, Darley-Usmar V, Struck A, Hogg N, Parthasarathy S. Role of apolipoprotein B-derived radical and alpha-tocopheroxyl radical in peroxidase-dependent oxidation of low density lipoprotein. *J Lipid Res.* 1995;36(5):1037-1045.
- Kamal-Eldin A, Appelqvist LA. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* 1996;31(7):671-701.
- Kaneko K, Kiyose C, Ueda T, Ichikawa H, Igarashi O. Studies of the metabolism of alpha-tocopherol stereoisomers in rats using [5-methyl-(14)C]SRR- and RRR-alpha-tocopherol. *J Lipid Res.* 2000;41(3):357-367.
- Kayden HJ, Traber MG. Absorption, lipoprotein transport, and regulation of plasma concentrations of vitamin E in humans. *J Lipid Res.* 1993;34(3):343-358.
- Kelleher J, Losowsky MS. The absorption of alpha-tocopherol in man. *Br J Nutr.* 1970;24(4):1033-1047.
- Kielmeyer F, Schuster G. Der Einfluß von Emulgatoren auf das Verhalten von Fett im Eismix während des Reifens. *Fette, Seifen, Anstrichmittel.* 1986;88(10):397-401.
- Kiene AK. Bioverfügbarkeit und Metabolismus von beta-Carotin und ausgewählten Vitamin E-Verbindungen (Dissertation). Hannover: Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, Naturwissenschaftliche Fakultät. 2007.
- Kim SH, Kinsella JE. Surface Activity of Food Proteins: Relationships Between Surface Pressure Development, Viscoelasticity of Interfacial Films and Foam Stability of Bovine Serum Albumin. *J Food Science.* 1985;50:1526-1530.
- Kiosseoglou VD, Sherman P. Influence of Egg Yolk Lipoproteins on the Rheology and Stability of O/W Emulsions and Mayonnaise 1. Viscoelasticity of Groundnut Oil-In-Water Emulsions and Mayonnaise. *J Texture Studies.* 1983;14:397-417.
- Kitabchi AE, Wimalasena J. Specific binding sites for D-alpha-tocopherol on human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta.* 1982;684(2):200-206.
- Kiyose C, Saito H, Kaneko K, Hamamura K, Tomioka M, Ueda T, Igarashi O. Alpha-tocopherol affects the urinary and biliary excretion of 2,7,8-trimethyl-2(2'-carboxyethyl)-6-hydroxychroman, gamma-tocopherol metabolite, in rats. *Lipids.* 2001;36(5):467-472.
- Kübler W. Praktikum der Nährstoff-Biokinetik (5). *Ernährungs-Umschau.* 2002a;49(8):312-314.

- Kübler W. Praktikum der Nährstoff-Biokinetik (2). Ernährungs-Umschau. 2002b;49(5):194-196.
- Kübler W. Praktikum der Nährstoff-Biokinetik (1). Ernährungs-Umschau. 2002c;49(4):136-139.
- Kübler W. Praktikum der Nährstoff-Biokinetik (4). Ernährungs-Umschau. 2002d;49(7):271-273.
- Kuo F, Subramanian B, Kotyla T, Wilson TA, Yoganathan S, Nicolosi RJ. Nanoemulsions of an anti-oxidant synergy formulation containing gamma tocopherol have enhanced bioavailability and anti-inflammatory properties. *Int J Pharm.* 2008;363(1-2):206-213.
- Lamon-Fava S, Wilson PW, Schaefer EJ. Impact of body mass index on coronary heart disease risk factors in men and women. The Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996 Dec;16(12):1509-15.
- Lauridsen C, Hedemann MS, Jensen SK. Hydrolysis of tocopheryl and retinyl esters by porcine carboxyl ester hydrolase is affected by their carboxylate moiety and bile acids. *J Nutr Biochem.* 2001;12(4):219-224.
- Leonard SW, Good CK, Gugger ET, Traber MG. Vitamin E bioavailability from fortified breakfast cereal is greater than that from encapsulated supplements. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(1):86-92.
- Leonhardt W, Hanefeld M, Schaper F. Diminished susceptibility to in vitro oxidation of low-density lipoproteins in hypercholesterolemia: key role of alpha-tocopherol content. *Atherosclerosis.* 1999;144(1):103-107.
- Liebler DC. The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Crit Rev Toxicol.* 1993;23(2):147-169.
- Lodge JK, Hall WL, Jeanes YM, Proteggente AR. Physiological factors influencing vitamin E biokinetics. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1031:60-73.
- Lodge JK. Vitamin E bioavailability in humans. *J Plant Physiol.* 2005;162(7):790-796.
- Löffler G, Mössner J. Gastrointestinaltrakt. In: Löffler G, Petrides PE, Heinrich PC. *Biochemie und Pathobiochemie.* Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2007:1053-1081.
- Lucey JA. ADSA Foundation Scholar Award. Formation and physical properties of milk protein gels. *J Dairy Sci.* 2002;85(2):281-294.
- Luley C, Wieland H. Epidemiologie überwiegend genetisch bedingter Dyslipoproteinämien. In: Schwandt P, Richter WO, Parhofer KG. *Handbuch Fettstoffwechselstörungen.* Stuttgart: Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, 2001:61-72.
- Mabile L, Bruckdorfer KR, Rice-Evans C. Moderate supplementation with natural alpha-tocopherol decreases platelet aggregation and low-density lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis.* 1999;147(1):177-185.
- Machlin LJ, Gabriel E. Kinetics of tissue alpha-tocopherol uptake and depletion following administration of high levels of vitamin E. *Ann N Y Acad Sci.* 1982;393:48-60.

- Mackie AR, Husband FA, Holt C, Wilde PJ. Adsorption of β -Lactoglobulin variants A and B to the air–water interface. *Int J Food Sci Technol*. 1999;34:509-516.
- Maldonado-Valderrama J, Gunning AP, Ridout MJ, Wilde PJ, Morris VJ. The effect of physiological conditions on the surface structure of proteins: Setting the scene for human digestion of emulsions. *Eur Phys J E Soft Matter*. 2009 Mar 8. [Epub ahead of print]
- Maruyama K, Sakashita T, Hagura Y, Suzuki K. Relationship between Rheology, Particle Size and Texture of Mayonnaise. *Food Sci Technol Res*. 2007;13(1):1-6.
- McCay PB. Vitamin E: interactions with free radicals and ascorbate. *Annu Rev Nutr*. 1985;5:323-340.
- McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med*. 2000;108(8):652-659.
- McIntyre BS, Briski KP, Gapor A, Sylvester PW. Antiproliferative and apoptotic effects of tocopherols and tocotrienols on preneoplastic and neoplastic mouse mammary epithelial cells. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000;224(4):292-301.
- Mellema M, Walstra P, van Opheusden JH, van Vliet T. Effects of structural rearrangements on the rheology of rennet-induced casein particle gels. *Adv Colloid Interface Sci*. 2002;98(1):25-50.
- Meydani SN, Meydani M, Blumberg JB, Leka LS, Pedrosa M, Diamond R, Schaefer EJ. Assessment of the safety of supplementation with different amounts of vitamin E in healthy older adults. *Am J Clin Nutr*. 1998;68(2):311-318.
- Meydani M. Vitamin E modulation of cardiovascular disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1031:271-279.
- Michels R, Foschum F, Kienle A. Optical properties of fat emulsions. *Opt Express*. 2008;16(8):5907-5925.
- Miller ER 3rd, Pastor-Barriuso R, Dalal D, Riemersma RA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med*. 2005;142(1):37-46.
- Minihane AM, Khan S, Leigh-Firbank EC, Talmud P, Wright JW, Murphy MC, Griffin BA, Williams CM. ApoE polymorphism and fish oil supplementation in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(8):1990-1997.
- Moinard-Chécot D, Chevalier Y, Briançon S, Beney L, Fessi H. Mechanism of nanocapsules formation by the emulsion-diffusion process. *J Colloid Interface Sci*. 2008;317(2):458-468.
- Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, Strauss WE, Oates JA, Roberts LJ 2nd. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med*. 1995;332(18):1198-1203.
- Mortensen A, Skibsted LH, Truscott TG. The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Arch Biochem Biophys*. 2001;385(1):13-19.

- Muldoon MF, Kritchevsky SB, Evans RW, Kagan VE. Serum total antioxidant activity in relative hypo- and hypercholesterolemia. *Free Radic Res.* 1996;25(3):239-245.
- Munoz J, Sherman P. Dynamic viscoelastic properties of some commercial salad dressings. *J Texture Studies.* 1990;21:411-426.
- Nagy K, Courtet-Compondu MC, Holst B, Kussmann M. Comprehensive analysis of vitamin E constituents in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry. *Anal Chem.* 2007;79(18):7087-7096.
- Nakamura T, Takebe K, Imamura K, Tando Y, Yamada N, Arai Y, Terada A, Ishii M, Kikuchi H, Suda T. Fat-soluble vitamins in patients with chronic pancreatitis (pancreatic insufficiency). *Acta Gastroenterol Belg.* 1996;59(1):10-14.
- Nascimento Gomes G, Barbosa FT, Radaeli RF, Cavanal MF, Mello Aires M, Zaladek Gil F. Effect of D-alpha-tocopherol on tubular nephron acidification by rats with induced diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res.* 2005;38(7):1043-1051.
- NCEP. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002;106(25):3143-3421.
- Niazi SK. *Handbook of Bioequivalence Testing.* New York: Informa Healthcare USA, 2007.
- Ohrvall M, Gustafsson IB, Vessby B. The alpha and gamma tocopherol levels in serum are influenced by the dietary fat quality. *J Hum Nutr Diet.* 2001;14(1):63-68.
- Olympus Life and Material Science Europa GmbH. Triacylglyceride. Olympus Life and Material Science Europa GmbH, Hamburg, 2007a.
- Olympus Life and Material Science Europa GmbH. Cholesterol. Olympus Life and Material Science Europa GmbH, Hamburg, 2007b.
- Olympus Life and Material Science Europa GmbH. LDL-Cholesterol. Olympus Life and Material Science Europa GmbH, Hamburg, 2007c.
- Olympus Life and Material Science Europa GmbH. HDL-Cholesterol. Olympus Life and Material Science Europa GmbH, Hamburg, 2007d.
- Omaye ST, Chow FI. Effect of Hard Red Spring Wheat Bran on the Bioavailability of Lipid-Soluble Vitamins and Growth of Rats Fed for 56 Days. 1984;49:504-506.
- Packer L. Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr.* 1991;53(4 Suppl):1050S-1055S.
- Parks EJ, Dare D, Frazier KB, Hellerstein MK, Neese RA, Hughes E, Traber MG. Dependence of plasma alpha-tocopherol flux on very low-density Triacylglyceride clearance in humans. *Free Radic Biol Med.* 2000;29(11):1151-1159.
- Patel V, Khanna S, Roy S, Ezziddin O, Sen CK. Natural vitamin E α -tocotrienol: Retention in vital organs in response to long-term oral supplementation and withdrawal. *Free Radic Res.* 2006;40:763-771.
- Pellett PL. Food energy requirements in humans. *Am J Clin Nutr.* 1990;51(5):711-722.

- Peressini D, Sensidoni A, de Cindio B. Rheological Characterization of Traditional and Light Mayonnaise. *J Food Eng.* 1998;35:409-417.
- Pietrzik K, Golly I, Loew D. *Handbuch Vitamine. Für Prophylaxe, Therapie und Beratung.* München: Urban & Fischer Verlag, 2008.
- Pohl M. Grenzflächeneigenschaften. In: Schubert H. *Emulgiertechnik. Grundlagen, Verfahren und Anwendungen.* Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2005:45-83.
- Pongcharoenkiat N, Narsimhan G, Lyons RT, Hem SL. The effect of surface charge and partition coefficient on the chemical stability of solutes in O/W emulsions. *J Pharm Sci.* 2002;91(2):559-570.
- Porkkala-Sarataho E, Nyssönen K, Salonen JT. Increased oxidation resistance of atherogenic plasma lipoproteins at high vitamin E levels in non-vitamin E supplemented men. *Atherosclerosis.* 1996;124(1):83-94.
- Princen HM, van Duyvenvoorde W, Buytenhek R, van der Laarse A, van Poppel G, Gevers Leuven JA, van Hinsbergh VW. Supplementation with low doses of vitamin E protects LDL from lipid peroxidation in men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15(3):325-333.
- Proteggente AR, Turner R, Majewicz J, Rimbach G, Minihane AM, Krämer K, Lodge JK. Noncompetitive plasma biokinetics of deuterium-labeled natural and synthetic alpha-tocopherol in healthy men with an apoE4 genotype. *J Nutr.* 2005;135(5):1063-1069.
- Proteggente AR, Rota C, Majewicz J, Rimbach G, Minihane AM, Kraemer K, Lodge JK. Cigarette smokers differ in their handling of natural (RRR) and synthetic (all rac) alpha-tocopherol: a biokinetic study in apoE4 male subjects. *Free Radic Biol Med.* 2006;40(12):2080-2091.
- Reboul E, Richelle M, Perrot E, Desmoulins-Malezet C, Pirisi V, Borel P. Bioaccessibility of carotenoids and vitamin E from their main dietary sources. *J Agric Food Chem.* 2006;54(23):8749-8755.
- Reboul E, Thap S, Perrot E, Amiot MJ, Lairon D, Borel P. Effect of the main dietary antioxidants (carotenoids, gamma-tocopherol, polyphenols, and vitamin C) on alpha-tocopherol absorption. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61(10):1167-1173.
- Richtlinie 90/496/EWG des Rates vom 24. September 1990 über die Nährwertkennzeichnung von Lebensmitteln, Abl. Nr. L 276 S. 0040-0044.
- Roberfroid MB. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(6 Suppl):1660S-1664S.
- Rodrigo R, Guichard C, Charles R. Clinical pharmacology and therapeutic use of antioxidant vitamins. *Fundam Clin Pharmacol.* 2007;21(2):111-127.
- Rodríguez-Alcalá LM, Fontecha J. Hot topic: Fatty acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomer composition of commercial CLA-fortified dairy products: evaluation after processing and storage. *J Dairy Sci.* 2007;90(5):2083-2090.

- Roodenburg AJ, Leenen R, van het Hof KH, Weststrate JA, Tijburg LB. Amount of fat in the diet affects bioavailability of tocopherol esters but not of alpha-carotene, beta-carotene, and vitamin E in humans. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(5):1187-1193.
- Rose CS, György P. Hemolysis with alloxan and alloxan-like compounds, and the protective action of tocopherol. *Blood.* 1950;5(11):1062-1074.
- Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-126.
- Sainani MR, Vyas HK, Tong PS. Characterization of particles in cream cheese. *J Dairy Sci.* 2004;87(9):2854-2863.
- Sangha O, Stucki G. Vitamin E in der Therapie rheumatischer Erkrankungen. *Z Rheumatol.* 1998;57:207-214.
- Sasol Germany GmbH. Product Information Miglyol® 812 N. Sasol Germany GmbH, Witten, 2004.
- Schaus EE, de Lumen BO, Chow FI, Reyes P, Omaye ST. Bioavailability of vitamin E in rats fed graded levels of pectin. *J Nutr.* 1985;115(2):263-270.
- Schelling GT, Roeder RA, Garber MJ, Pumfrey WM. Bioavailability and interaction of vitamin A and vitamin E in ruminants. *J Nutr.* 1995;125(6 Suppl):1799S-1803S.
- Schneider C. Chemistry and biology of vitamin E. *Mol Nutr Food Res.* 2005;49(1):7-30.
- Schubert H. Einführung in die Emulgiertechnik. In: Schubert H. Emulgiertechnik. Grundlagen, Verfahren und Anwendungen. Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2005:1-15.
- Schuchmann HP, Karbstein G. Tropfenaufbruch und Energiedichtekonzept beim mechanischen Emulgieren. In: Schubert H. Emulgiertechnik. Grundlagen, Verfahren und Anwendungen. Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2005:171-205.
- Schultz M, Leist M, Petrzika M, Gassmann B, Brigelius-Flohé R. Novel urinary metabolite of alpha-tocopherol, 2,5,7,8-tetramethyl-2(2'-carboxyethyl)-6-hydroxychroman, as an indicator of an adequate vitamin E supply? *Am J Clin Nutr.* 1995;62(6 Suppl):1527S-1534S.
- Schultz M, Leist M, Elsner A, Brigelius-Flohé R. alpha-Carboxyethyl-6-hydroxychroman as urinary metabolite of vitamin E. *Methods Enzymol.* 1997;282:297-310.
- Schutz Y. Ermittlung der Körperzusammensetzung. In: Biesalski HK, Fürst P, Kasper H, Kluthe R, Pöler W, Puchstein C, Stähelin HB. Ernährungsmedizin. Nach dem Curriculum Ernährungsmedizin der Bundesärztekammer. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2004:8-18.
- Simon EJ, Eisengart A, Sundheim L, Milhorat AT. The metabolism of vitamin E. II. Purification and characterization of urinary metabolites of alpha-tocopherol. *J Biol Chem.* 1956b;221(2):807-817.
- Simon EJ, Gross CS, Milhorat AT. The metabolism of vitamin E. I. The absorption and excretion of d-alpha-tocopheryl-5-methyl-C14-succinate. *J Biol Chem.* 1956a;221(2):797-805.

- Simon E, Paul JL, Soni T, Simon A, Moatti N. Plasma and erythrocyte vitamin E content in asymptomatic hypercholesterolemic subjects. *Clin Chem.* 1997;43(2):285-289.
- Singh U, Jialal I. Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1031:195-203.
- Singh U, Devaraj S, Jialal I. Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu Rev Nutr.* 2005;25:151-174.
- Sklan D, Donoghue S. Vitamin E response to high dietary vitamin A in the chick. *J Nutr.* 1982;112(4):759-765.
- Smith LJ, Clark DC. Measurement of the secondary structure of adsorbed protein by circular dichroism. 1. Measurements of the helix content of adsorbed melittin. *Biochim Biophys Acta.* 1992;1121(1-2):111-118.
- Sokol RJ, Heubi JE, Iannaccone ST, Bove KE, Balistreri WF. Vitamin E deficiency with normal serum vitamin E concentrations in children with chronic cholestasis. *N Engl J Med.* 1984;310(19):1209-1212.
- Sontag TJ, Parker RS. Influence of major structural features of tocopherols and tocotrienols on their omega-oxidation by tocopherol-omega-hydroxylase. *J Lipid Res.* 2007;48(5):1090-1098.
- Souci SW, Fachmann W, Kraut H. Food Composition and Nutrition Tables. Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen. La composition des aliments, Tableaux des valeurs nutritives. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2008.
- Spreer E. Technologie der Milchverarbeitung. Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2005.
- Steinijans VW, Diletti E. Statistical analysis of bioavailability studies: parametric and nonparametric confidence intervals. *Eur J Clin Pharmacol.* 1983;24(1):127-136.
- Štern P, Valentová H, Pokorný J. Rheological and sensory texture of mayonnaise. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2001;103:23-28.
- Stocker R. The ambivalence of vitamin E in atherogenesis. *Trends Biochem Sci.* 1999;24(6):219-223.
- Stocker A. Molecular mechanisms of vitamin E transport. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1031:44-59.
- Suzuki YJ, Tsuchiya M, Wassall SR, Choo YM, Govil G, Kagan VE, Packer L. Structural and dynamic membrane properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol: implication to the molecular mechanism of their antioxidant potency. *Biochemistry.* 1993;32(40):10692-10699.
- ten Grotenhuis E, Tuinier R, de Kruif CG. Phase stability of concentrated dairy products. *J Dairy Sci.* 2003;86(3):764-769.
- Ternes W. Naturwissenschaftliche Grundlagen der Lebensmittelzubereitung. Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2008.

- Thurnham DI, Davies JA, Crump BJ, Situnayake RD, Davis M. The use of different lipids to express serum α -tocopherol: lipid ratios for the measurement of vitamin E status. *Ann Clin Biochem.* 1986;23 (Pt 5):514-520.
- Timmermann F. Emulgatoren: Aufbau und Wirkungsweise. In: Schubert H. *Emulgiertechnik. Grundlagen, Verfahren und Anwendungen.* Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2005:19-43.
- Tipler PA. *Physik.* Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 1994.
- Traber MG, Olivecrona T, Kayden HJ. Bovine milk lipoprotein lipase transfers tocopherol to human fibroblasts during Triacylglyceride hydrolysis in vitro. *J Clin Invest.* 1985; 75(5):1729-1734.
- Traber MG, Rudel LL, Burton GW, Hughes L, Ingold KU, Kayden HJ. Nascent VLDL from liver perfusions of cynomolgus monkeys are preferentially enriched in RRR- compared with SRR- α -tocopherol: studies using deuterated tocopherols. *J Lipid Res.* 1990a;31(4):687-694.
- Traber MG, Burton GW, Ingold KU, Kayden HJ. RRR- and SRR- α -tocopherols are secreted without discrimination in human chylomicrons, but RRR- α -tocopherol is preferentially secreted in very low density lipoproteins. *J Lipid Res.* 1990b;31(4):675-685.
- Traber MG, Burton GW, Hughes L, Ingold KU, Hidaka H, Malloy M, Kane J, Hyams J, Kayden HJ. Discrimination between forms of vitamin E by humans with and without genetic abnormalities of lipoprotein metabolism. *J Lipid Res.* 1992;33(8):1171-1182.
- Traber MG, Ramakrishnan R, Kayden HJ. Human plasma vitamin E kinetics demonstrate rapid recycling of plasma RRR- α -tocopherol. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(21):10005-10008.
- Traber MG, Sies H. Vitamin E in humans: demand and delivery. *Annu Rev Nutr.* 1996;16:321-347.
- Traber MG, Rader D, Acuff RV, Ramakrishnan R, Brewer HB, Kayden HJ. Vitamin E dose-response studies in humans with use of deuterated RRR- α -tocopherol. *Am J Clin Nutr.* 1998a;68(4):847-853.
- Traber MG, Elsner A, Brigelius-Flohé R. Synthetic as compared with natural vitamin E is preferentially excreted as α -CEHC in human urine: studies using deuterated α -tocopheryl acetates. *FEBS Lett.* 1998b;437(1-2):145-148.
- Traber MG, Winklhofer-Roob BM, Roob JM, Khoschsorur G, Aigner R, Cross C, Ramakrishnan R, Brigelius-Flohé R. Vitamin E kinetics in smokers and nonsmokers. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(11):1368-1374.
- Traber MG. Vitamin E. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Hrsg. *Modern Nutrition in Health and Disease.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006:396-411.
- Tscheuschner HD. Grundlegende rheologische Eigenschaften. In: Weipert H, Tscheuschner HD, Windhab E. *Rheologie der Lebensmittel.* Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co., 1993:51-100.

- Tscheuschner HD. Grundzüge der Lebensmitteltechnik. Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2004.
- Tsuzuki W, Yunoki R, Yoshimura H. Intestinal epithelial cells absorb gamma-tocotrienol faster than alpha-tocopherol. *Lipids*. 2007;42(2):163-170.
- TuinierR, de Kruif CG. Stability of Casein micelles in milk. *J Chem Phys*. 2002;117(3):1290-1295.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160(1):1-40.
- van den Berg H, van der Gaag M, Hendriks H. Influence of lifestyle on vitamin bioavailability. *Int J Vitam Nutr Res*. 2002;72(1):53-59.
- van het Hof KH, Tijburg LB, de Boer HS, Wiseman SA, Weststrate JA. Antioxidant fortified margarine increases the antioxidant status. *Eur J Clin Nutr*. 1998;52(4):292-299.
- van Tits LJ, Demacker PN, de Graaf J, Hak-Lemmers HL, Stalenhoef AF. Alpha-tocopherol supplementation decreases production of superoxide and cytokines by leukocytes ex vivo in both normolipidemic and Hypertriacylglyceridemic individuals. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(2):458-464.
- Vaule H, Leonard SW, Traber MG. Vitamin E delivery to human skin: studies using deuterated alpha-tocopherol measured by APCI LC-MS. *Free Radic Biol Med*. 2004;36(4):456-463.
- Verordnung (EG) Nr. 1925/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 20. Dezember 2006 über den Zusatz von Vitaminen und Mineralstoffen sowie bestimmten anderen Stoffen zu Lebensmitteln, *Abl. EG Nr. L 404/26*.
- Villaverde C, Baucells MD, Manzanilla EG, Barroeta AC. High levels of dietary unsaturated fat decrease alpha-tocopherol content of whole body, liver, and plasma of chickens without variations in intestinal apparent absorption. *Poult Sci*. 2008;87(3):497-505.
- Violi F, Cangemi R, Sabatino G, Pignatelli P. Vitamin E for the treatment of cardiovascular disease: is there a future? *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1031:292-304.
- Vivekananthan DP, Penn MS, Sapp SK, Hsu A, Topol EJ. Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *Lancet*. 2003;361(9374):2017-2023.
- Wajda R, Zirkel J, Schaffer T. Increase of bioavailability of coenzyme Q(10) and vitamin E. *J Med Food*. 2007;10(4):731-734.
- Walstra P. Casein sub-micelles: do they exist? *Int Dairy J*. 1999;9:189-192.
- Weiser H, Vecchi M. Stereoisomers of alpha-tocopheryl acetate--characterization of the samples by physico-chemical methods and determination of biological activities in the rat resorption-gestation test. *Int J Vitam Nutr Res*. 1981;51(2):100-113.
- Weiser H, Vecchi M. Stereoisomers of alpha-tocopheryl acetate. II. Biopotencies of all eight stereoisomers, individually or in mixtures, as determined by rat resorption-gestation tests. *Int J Vitam Nutr Res*. 1982;52(3):351-370.

- Weiss WP, Hogan JS, Wyatt DJ. Relative bioavailability of all-rac and RRR vitamin E based on neutrophil function and total alpha-tocopherol and isomer concentrations in periparturient dairy cows and their calves. *J Dairy Sci.* 2009;92(2):720-731.
- WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: World Health Organization, 2000.
- WHO. The World Health report: 2003: Shaping the Future. Geneva: World Health Organization, 2003.
- Wiernsperger NF. Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab.* 2003;29(6):579-585.
- Wilde P, Mackie A, Husband F, Gunning P, Morris V. Proteins and emulsifiers at liquid interfaces. *Adv Colloid Interface Sci.* 2004;108-109:63-71.
- Williams JC, Forster LA, Tull SP, Ferns GA. Effects of vitamin E on human platelet and mononuclear cell responses in vitro. *Int J Exp Pathol.* 1999;80(4):227-234.
- Wimalasena J, Davis M, Kitabchi AE. Characterization and solubilization of the specific binding sites for d-alpha-tocopherol from human erythrocyte membranes. *Biochem Pharmacol.* 1982;31(21):3455-3461.
- Windhab E. Allgemeine rheologische Messprinzipie, Geräte und Methoden. In: Weipert H, Tscheuschner HD, Windhab E. *Rheologie der Lebensmittel.* Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co., 1993:173-218.
- Windhab EJ. Rheologie und Mikrostruktur – Zusammenhänge bei Emulsionen. In: Schubert H. *Emulgiertechnik. Grundlagen, Verfahren und Anwendungen.* Hamburg: B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, 2005:119-135.
- Witting LA, Lee L. Dietary levels of vitamin E and polyunsaturated fatty acids and plasma vitamin E. *Am J Clin Nutr.* 1975;28(6):571-576.
- Wolf G. How an increased intake of alpha-tocopherol can suppress the bioavailability of gamma-tocopherol. *Nutr Rev.* 2006;64(6):295-299.
- Wolf G. Estimation of the human daily requirement of vitamin E by turnover kinetics of labeled RRR-alpha-tocopherol. *Nutr Rev.* 2007;65(1):46-48.
- Wong DWS, Camirand WM, Pavlath AE. Structures and functionalities of milk proteins. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1996;36:807-844.
- Wu JH, Croft KD. Vitamin E metabolism. *Mol Aspects Med.* 2007;28(5-6):437-452.
- Wüstneck R, Krägel J, Miller R, Wilde PJ, Clark DC. The adsorption of surface-active complexes between β -casein, β -lactoglobulin and ionic surfactants and their shear rheological behaviour. *Colloid Surf A: Physiochem Eng Aspects.* 1996;114:255-265.
- Yoshida Y, Niki E, Noguchi N. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. *Chem Phys Lipids.* 2003;123(1):63-75.
- Zhang XH, Ducker W. Interfacial oil droplets. *Langmuir.* 2008;24(1):110-115.

Zimmer Ł, Czarnecki W. Polysaccharide formulation for improvement of racemic vitamin E bioavailability. *Acta Pol Pharm.* 2007;64(2):169-174.

9 Anhang

Inhaltsverzeichnis

A 1	Studienunterlagen.....	212
A 1.1	Informed Consent und CRF's	212
A 1.1.2	Informed Consent, Datenschutz- und Einverständniserklärung	212
A 1.1.3	CRF-Screening	219
A 1.1.4	CRF-Ernährung.....	225
A 1.1.5	CRF-Intervention (t_0)	229
A 1.1.6	CRF-Intervention ($t_1/ t_2/ t_3$).....	232
A 1.2	Zusammensetzung der Kost.....	236
A 1.3	Spezifikationen	236
A 1.3.1	Covitol® F-1370	236
A 1.3.2	Miglyol® 812 N.....	236
A 2	Biokinetische Parameter	237
A 2.1	Prozentuale Veränderungen der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen.....	237
A 2.1.1	Studienphase I.....	237
A 2.1.2	Studienphase II	238
A 2.1.3	Studienphase III	239
A 2.1.4	Studienphase IV.....	240
A 2.2	α -Tocopherol-Serumkonzentrationen zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten... ..	242
A 2.2.1	Studienphase I	242
A 2.2.2	Studienphase II	246
A 2.2.3	Studienphase III	248
A 2.2.4	Studienphase IV.....	252

A 1 Studienunterlagen

A 1.1 Informed Consent und CRF's

A 1.1.2 Informed Consent, Datenschutz- und Einverständniserklärung

Information für Studienteilnehmer

Sehr geehrte Studienteilnehmerin, sehr geehrter Studienteilnehmer, wir freuen uns, dass Sie sich für eine Teilnahme an unserer Ernährungsstudie interessieren. Dies ist wichtig, da ohne die Bereitschaft von Freiwilligen keine neuen Erkenntnisse über die Wirkung von Nahrungsinhaltsstoffen auf die Gesunderhaltung gewonnen werden können. In der geplanten Studie mit dem Titel

„Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Vitamin E aus drei Lebensmittelmatrizes“

soll bei freiwilligen Probanden an der Leibniz Universität Hannover untersucht werden, in welchem Umfang die Blutspiegel an Vitamin E unmittelbar nach dem Verzehr von drei unterschiedlichen Lebensmittelzubereitungen, die mit Vitamin E angereichert sind, ansteigen. Vitamin E ist ein fettlösliches Vitamin, das zahlreiche wichtige Funktionen im menschlichen Stoffwechsel erfüllt. So ist es das wichtigste lipophile Antioxidans im menschlichen Körper und schützt vor allem die Zellmembranen vor oxidativen Schäden durch freie Radikale. Aufgrund seiner Funktionen wird derzeit die Bedeutung einer ausreichenden Versorgung für die Prävention verschiedener ernährungsassoziierter Erkrankungen diskutiert. Durchschnittlich ist in Deutschland, gemessen an den Zufuhrempfehlungen, bei der allgemein üblichen Ernährungsweise von einer zu geringen Versorgung der Bevölkerung auszugehen. Aus diesem Grund zählt Vitamin E zu den kritischen Nährstoffen. Um dennoch eine ausreichende Zufuhr zu gewährleisten, können Nahrungsergänzungsmittel mit einer hohen Bioverfügbarkeit eingesetzt werden.

Ziel dieser Untersuchung ist zum einen Vitamin E in Lebensmittel zu integrieren, die üblicherweise verzehrt werden und diese auf Unterschiede in der Höhe der Bioverfügbarkeit hin zu testen. Zum anderen soll geprüft werden, ob über eine Anreicherung von Lebensmitteln eine Verbesserung der Vitamin-E-Versorgung erzielt werden kann.

Diese Untersuchung wird unter Berücksichtigung aller ethischen, rechtlichen und wissenschaftlichen Anforderungen durchgeführt, die in der Europäischen Gemeinschaft für Studien gelten. Der Leiter der Studie übernimmt die Verantwortung für die ordnungsgemäße Durchführung der Untersuchung.

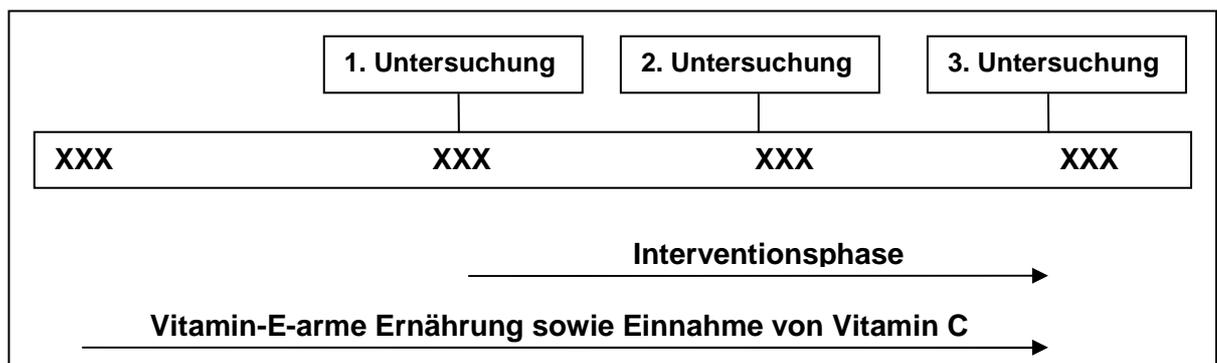
Studiendurchführung

Die geplante Studie wird an der Leibniz Universität Hannover im Institut für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie durchgeführt. Der dreiwöchige Untersuchungszeitraum ist vom **XXX bis XXX**. Mit Hilfe dieser Untersuchung soll eine Aussage über die Höhe der Resorption von Vitamin E aus den einzelnen Lebensmitteln abgeleitet werden können. Daher erhalten Sie an den Untersuchungstagen im Abstand von einer Woche jeweils eines der zu untersuchenden, mit 60 mg Vitamin E angereicherten Lebensmittel. Die Zuordnung der entsprechenden Lebensmittelzubereitung zum Untersuchungstag wird nach dem Zufallsprinzip bestimmt.

Die Teilnahme an der Untersuchung erfordert zudem, dass Sie jeweils **zwei Wochen vor Studienbeginn** und auch **während des gesamten Untersuchungszeitraums** (also insgesamt über einen Zeitraum von vier Wochen) auf Vitamin-E-haltige Nahrungsergänzungsmittel sowie Vitamin-E-angereicherte und -reiche Lebensmittel verzichten. In der anliegenden Liste finden Sie eine Übersicht über Lebensmittel mit einem hohen Gehalt an Vitamin E, die Sie bitte während des Untersuchungszeitraums meiden sollten. Der Vitamin C Status ist entscheidend für die Regeneration von Vitamin E im Stoffwechsel. Um einen standardisierten Vitamin C Status zu gewährleisten, bitten wir Sie daher **zwei Wochen vor Studienbeginn** und **während des Untersuchungszeitraums** (also ebenfalls über vier Wochen) täglich ein Vitamin-C-Präparat einzunehmen, das Sie von uns erhalten.

Ihre Körpergröße und -gewicht werden vor dem ersten Blutabnahmetag ermittelt, damit wir die standardisierten Mahlzeiten an den Untersuchungstagen anpassen können.

Nachfolgend finden Sie eine Übersichtsskizze zum **Untersuchungsablauf**:



Studienablauf

An den jeweiligen **Untersuchungstagen** (die Termine werden Ihnen schriftlich mitgeteilt) bitten wir Sie, **nüchtern** im Institut zu erscheinen. Nüchtern bedeutet, dass Sie morgens lediglich Wasser trinken dürfen und abends zuvor nach 20 Uhr nichts mehr essen und ebenfalls nur noch Wasser trinken sollten. Zunächst wird Ihnen nüchtern Blut abgenommen. Im Anschluss daran erhalten Sie im Rahmen eines Frühstücks das zu untersuchende Lebensmittel. Um einheitliche Studienbedingungen zu gewährleisten, bitten wir Sie, das Frühstück und alle weiteren Mahlzeiten komplett und zu den angegebenen Zeitpunkten zu essen. Im Laufe der Untersuchungstage dürfen Sie nur Wasser, Kaffee oder Tee trinken. Den Kaffee bzw. Tee bitte nur schwarz oder mit Süßstoff trinken, also nicht mit Milch und/oder Zucker. Dies ist wiederum notwendig, um einheitliche Studienbedingungen zu gewährleisten. Genau 3, 4½, 6, 7½, 9, 12 und 24 h Stunden nach Beginn des Frühstücks erfolgen weitere Blutentnahmen. Zu den Mahlzeiten und Blutentnahmen bitten wir Sie immer pünktlich zu erscheinen.

Bei jeder Blutabnahme werden nur **9 ml Blut**, insgesamt über 24 h also 72 ml Blut, abgenommen. Im Vergleich zu etwa 500 ml, die üblicherweise bei einer Blutspende entnommen werden, handelt es sich also um eine vergleichsweise geringe Menge. Wir würden Ihnen dennoch empfehlen vorsichtshalber vier Wochen vor und vier Wochen nach dem gesamten Untersuchungszeitraum auf eine Blutspende zu verzichten.

Ausschlusskriterien und Vorsichtsmaßnahmen

In die Studie können nur gesunde Männer eingeschlossen werden. Frauen sind von der Studie ausgeschlossen, da der Stoffwechsel von Vitamin E durch die Hormonspiegel beeinflusst werden kann. Personen mit Erkrankungen des Verdauungstraktes sowie mit Zuständen nach operativen Eingriffen am Verdauungstrakt können an der Studie nicht teilnehmen. Weitere Ausschlusskriterien sind Zigarettenrauchen, Alkohol- und Drogenmissbrauch. Auch bei Verwendung von Abführmitteln oder ärztlich verordneter Vitamin-E-Einnahme ist eine Teilnahme nicht möglich. Ausgeschlossen von der Studie sind außerdem Personen mit Blutgerinnungsstörungen sowie solche, die gerinnungshemmende Medikamente (z.B. Marcumar®) einnehmen.

Mit Ausnahme der Einschränkungen hinsichtlich des Verzehrs der Vitamin-E-angereicherten Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel sollten Sie keine gravierenden Änderungen in den Ernährungs- und Lebensgewohnheiten während des Studienzeitraums und zwei Wochen vor dem ersten Untersuchungstag vornehmen.

Studienbeendigung

Die Teilnahme an dieser Untersuchung ist **freiwillig**. Sie können Ihre Teilnahme zu jedem Zeitpunkt der klinischen Prüfung ohne Angabe von Gründen widerrufen. Die Studie kann auch vom Leiter der Untersuchung jederzeit unter Abwägung des Nutzen-Risiko-Verhältnisses unterbrochen und beendet werden.

Risiken und Nebenwirkungen

Von den mit Vitamin E angereicherten Lebensmitteln sind **keine Risiken und Nebenwirkungen** zu erwarten, da es sich bei Vitamin E um ein natürlicherweise in Lebensmitteln vorkommendes Vitamin handelt. Auch die Vitamin-C-Gabe während der Untersuchungszeit stellt kein Risiko dar. Die Dosierung orientiert sich an den allgemein üblichen Zufuhrempfehlungen. Die Blutentnahme erfolgt durch einen approbierten Arzt. Hierbei können die üblichen, mit dem Einstich verbundenen Risiken (z.B. blaue Flecken) auftreten. Sollten während des Studienzeitraumes gesundheitliche Probleme auftreten – unabhängig davon, ob sie im Zusammenhang mit der Studiendurchführung stehen – bitten wir Sie, uns darüber in Kenntnis zu setzen.

Notfalladresse bei unerwünschten Ereignissen während der Studie sowie Name und Adresse der Prüfperson:

Inga Schneider

Leibniz Universität Hannover
Institut für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie
Am Kleinen Felde 30
30167 Hannover
Tel.: 0511 - 762 5969

schneider@nutrition.uni-hannover.de

Bestimmungen zum Datenschutz

Der ordnungsgemäße Ablauf einer Studie schließt den Schutz persönlicher Daten ein. Dementsprechend werden Unterlagen mit persönlichen Daten verschlossen aufbewahrt und die Untersuchungsdaten werden durch die Vergabe von Probandennummern anonymisiert. Der abschließende Studienbericht enthält nur die anonymisierten Studiendaten.

Falls Sie noch Fragen haben, können Sie uns jederzeit gern anrufen oder diese während der Untersuchungstermine persönlich mit uns abklären!

**Bitte meiden Sie folgende Lebensmittel
in der Zeit vom XXX bis XXX**

Vitamin-E-haltige Nahrungsergänzungsmittel**Vitamin-E-angereicherte Lebensmittel** (z.B. ACE-Säfte)**Fette / Öle**

pflanzliche Öle
pflanzliche Fette
Margarine
Mayonnaise

Getreide / -erzeugnisse

ganze Getreidekörner
Getreidekeime / Keimlinge
Brot mit ganzen Getreidekörnern
Müsliriegel

Nüsse / Samen

Haselnüsse
Mandeln
Erdnüsse
Erdnussflips
Erdnussbutter
Nusskuchen
Schokolade mit Nüssen
Schokoriegel mit Nüssen
(z.B. Snickers[®], Nuts[®], etc.)

Sonstiges

Früchtebrot
Sojaerzeugnisse
Nutella
Nougat

Einwilligungserklärung

zur Teilnahme an der ernährungsphysiologischen Studie:

„Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Vitamin E aus drei Lebensmittelmatrizes“

Name, Vorname:

Adresse:

.....

1. Ich bin eingehend über die Art, Durchführung und die Risiken der Untersuchung aufgeklärt worden. Alle meine Fragen zu der vorgesehenen Untersuchung wurden zu meiner Zufriedenheit beantwortet. Mit den Teilnahmebedingungen, insbesondere mit den Ernährungsbedingungen zwei Wochen vor und während der Untersuchung (das sind insgesamt vier Wochen) bin ich einverstanden.
2. Ich versichere hiermit, dass ich sämtliche Fragen nach bestem Wissen beantwortet habe und dass ich mich an die Anweisungen im Rahmen dieser Studie halten werde.
3. **Die Teilnahme an dieser ernährungsphysiologischen Untersuchung ist freiwillig. Ich kann jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile meine Teilnahme widerrufen.**
4. Ich erkläre mich bereit, im Laufe der Untersuchung an drei Tagen, im Abstand von einer Woche, je acht Blutabnahmen durchführen zu und dieses Blut für die in dieser Studie vorgesehenen ernährungswissenschaftlichen Untersuchungen zur Verfügung zu stellen.
5. Mir ist bewusst, dass mit dem Ausfüllen des Probandendokumentationsbogens und der Einwilligungserklärung kein verbindliches Recht auf Teilnahme an der Studie verbunden ist. Die Prüfer werden die einzelnen Studienteilnehmer ausschließlich anhand der für die Studie maßgebenden Ein- und Ausschlusskriterien auswählen.

.....

Ort, Datum und Unterschrift
des Teilnehmers

.....

Ort, Datum, Stempel und Unterschrift
des Leiters der Prüfung

Sie erhalten eine Kopie dieser auch vom Leiter der Prüfung
unterzeichneten Einwilligungserklärung.

Datenschutzerklärung

zur Teilnahme an der ernährungsphysiologischen Studie:

„Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Vitamin E aus drei Lebensmittelmatrizes“

Name, Vorname:

Adresse:
.....

Im Rahmen der ernährungsphysiologischen Studie werden Ihre Daten einschließlich der Daten über Geschlecht, Alter, Gewicht und Körpergröße anonymisiert (d. h. ohne Nennung Ihres Namens) aufgezeichnet. Die anonymisierten Daten werden dem Auftraggeber der Studie zu wissenschaftlichen Zwecken zur Verfügung gestellt.

Die ordnungsgemäße Durchführung der Studie, insbesondere die ordnungsgemäße Erhebung der Daten sowie deren Zuordnung zu bestimmten Studienteilnehmern, wird von durch den Leiter der Studie autorisierten Mitarbeitern auch durch direkte Einsicht in Ihre personenbezogenen (d.h. in Verbindung mit Ihrem Namen genannten) Daten überprüft. Diese autorisierten Mitarbeiter werden für diese Aufgabe speziell ausgebildet und haben sich in einer schriftlichen Erklärung zum Stillschweigen verpflichtet. Sie unterliegen auch der Verschwiegenheitsverpflichtung gemäß § 40 Bundesdatenschutzgesetz. Die Mitarbeiter dürfen Ihre Daten nur in anonymisierter Form weitergeben und keine Kopien oder Abschriften von Ihren persönlichen Unterlagen herstellen. Einsicht in Ihre beim Leiter der Studie vorliegenden persönlichen Daten nehmen unter Umständen auch die zuständige Überwachungsbehörde oder die Freiburger Ethikkommission. Ihre persönlichen Daten werden dabei in Übereinstimmung mit dem geltenden Datenschutzgesetz vertraulich behandelt.

Eine Weitergabe Ihrer Daten erfolgt ausschließlich anonymisiert. Der abschließende Studienbericht enthält nur die anonymisierten Studiendaten. Im Falle der Veröffentlichung von Studienergebnissen bleibt die Vertraulichkeit Ihrer persönlichen Daten gewährleistet. Alle personenbezogenen Daten werden nach Abschluss der Studie gelöscht. Die Beachtung des Bundesdatenschutzgesetzes ist in vollem Umfang sichergestellt.

Ich stimme der oben beschriebenen Erfassung und Behandlung meiner personenbezogenen Daten und Einsichtnahme in diese Daten zu.

.....

Ort, Datum und Unterschrift
des Teilnehmers

.....

Ort, Datum, Stempel und Unterschrift
des Leiters der Prüfung

Sie erhalten eine Kopie dieser auch vom Leiter der Prüfung
unterzeichneten Datenschutzerklärung.

A 1.1.3 CRF-Screening**Aufnahmefragebogen (CRF Screening)**

zur Studie

**„Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Vitamin E
aus drei Lebensmittelmatrizes“****Sehr geehrte Studieninteressentin, sehr geehrter Studieninteressent,**

um zu beurteilen, ob Sie an unserer Studie teilnehmen können, benötigen wir einige Angaben zu Ihrer Person. Die Auswertung des Fragebogens erfolgt nur zu wissenschaftlichen Zwecken. Persönliche Daten werden vertraulich behandelt und nicht an Dritte weitergegeben.

Versuchen Sie bitte, alle Fragen so genau wie möglich zu beantworten. Für evtl. Fragen, stehe ich – **Inga Schneider** – Ihnen gerne telefonisch unter **0511 - 762 5969** zur Verfügung.

*Bitte reichen Sie den ausgefüllten Fragebogen bis **spätestens XXX** an uns zurück!*

Hiermit erkläre ich mich einverstanden, dass die in diesem Fragebogen ermittelten Daten im Rahmen dieses Studienvorhabens vom Institut für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie, Leibniz Universität Hannover, für wissenschaftlich Zwecke verwendet werden dürfen. Ihre persönlichen Daten werden dabei in Übereinstimmung mit dem geltenden Datenschutzgesetz vertraulich* behandelt.

Name, Vorname:

Strasse Hausnummer:

PLZ Wohnort:

Telefonnummer:

E-Mail-Adresse:

.....
Ort, Datum.....
Unterschrift*** Noch ein Hinweis:**

Diese Seite mit Ihren persönlichen Angaben wird vertraulich behandelt, vom Fragebogen abgetrennt und in einem verschlossenen Schrank aufbewahrt.

Persönliche Daten

Geschlecht

- männlich
 weiblich

Geburtsdatum (Tag, Monat, Jahr)

Um die Mahlzeiten entsprechend Ihrem Körpergewicht und -größe standardisieren zu können, benötigen wir Ihre aktuellen Daten:

Körpergröße (cm)

Körpergewicht, unbedeutet (kg)

Gesundheitszustand

1. Leiden Sie an ärztlich diagnostizierten Fettstoffwechselstörungen (Hypertriacylglyceridämie, Hypercholesterolämie, etc.)?

- nein
 ja, und zwar

2. Leiden Sie an weiteren diagnostizierten chronischen Erkrankungen?

- nein
 ja, und zwar

3. Leiden Sie an ärztlich diagnostizierten Resorptionsstörungen (Vitamin-E-Resorptionsdefekt, Fettresorptionsstörungen, etc.)?

- nein
 ja, und zwar

4. Leiden Sie an einer Erkrankung, die den Verdauungstrakt betrifft (Colitis Ulcerosa, Morbus Crohn, Zöliakie, etc.)?

- nein
 ja, und zwar

5. Sind bei Ihnen Operationen vorgenommen worden, bei denen Teile des Verdauungstraktes entfernt wurden?

- nein
 ja, und zwar

6. Leiden Sie unter einer Blutgerinnungsstörungen (z. B. Bluterkrankheit)?

- nein
 ja, und zwar

Medikamenteneinnahme

7. Nehmen Sie derzeit ärztlich verordnete Vitamin-E-Supplemente?

- nein
 ja und zwar
(bitte Arzneimittelname und Dosierung angeben)

8. Nehmen Sie derzeit blutverdünnende Medikamente mit dem Wirkstoff Phenprocoumon oder Warfarin ein (z.B. Marcumar®, Falithrom®, Coumadin®)?

- nein
 ja

9. Nehmen Sie regelmäßig Acetylsalicylsäure-haltige Arzneimittel ein (z.B. Aspirin® protect, ASS ratiopharm®100 TAH)?

- nein
 ja und zwar
(bitte Arzneimittelname und Dosierung angeben)

10. Verwenden Sie regelmäßig Abführmittel (z.B. Dulcolax®, Agiolax®)?

- nein
 ja, und zwar.....
(bitte Arzneimittelname und Dosierung angeben)
- täglich
 2 bis 3 mal wöchentlich
 1 mal wöchentlich
 1 mal pro Monat oder seltener

11. Nehmen Sie derzeit andere als die von uns angegebenen Medikamente?

- nein
- ja, und zwar
-

Lebensstilfaktoren

12. Wie oft treiben Sie Sport?

- 5 oder mehr Std. pro Woche
- 3 bis < 5 Std. pro Woche
- 1 bis < 3 Std. pro Woche
- weniger als 1 Std. pro Woche
- gar nicht

13. Rauchen Sie (Zigaretten, Zigarren, Zigarillos, Pfeife)?

- nein, ich habe noch nie geraucht
- nein, ich habe mit dem Rauchen aufgehört und zwar seit (Jahr)
- ja, und zwar
- 1 bis weniger als 10 Stück täglich
- 10 bis weniger als 20 Stück täglich
- 20 und mehr Stück pro Tag

14. Nehmen Sie regelmäßig andere Drogen zu sich?

- nein
- ja

Ernährungsverhalten

15. Wie ernähren Sie sich?

- Mischkost (inkl. Fleisch)
- lakto-ovo-vegetarisch + Fisch (inkl. Milch, Eier; ohne Fleisch, Wurst, Geflügel)
- lakto-ovo-vegetarisch (inkl. Milch, Eier; ohne Fleisch, Wurst, Geflügel, Fisch)
- vegan (rein pflanzliche Kost)
- Sonstiges:
-

16. Seit wann ernähren Sie sich so?

- schon immer
- seit (Jahr)en

17. Nehmen Sie regelmäßig Vitamin- oder Mineralstoffpräparate ein (z.B. Brausetabletten, Kautabletten, Dragees)?

- nein ⇒ weiter mit Frage 19
- ja, gelegentlich
- ja, wöchentlich
- ja, täglich

18. Bitte geben Sie in der nachstehenden Tabelle alle Nahrungsergänzungsmittel an, die Sie derzeit einnehmen.

Name des Präparates	Hersteller	Dosierung
<i>z.B. EUNOVA® Langzeit</i>	<i>Firma XY</i>	<i>morgens 1 Tablette</i>
<i>z.B. Omega-3-Fischölkapseln</i>		

19. Wie häufig verzehren Sie mit Vitamin E angereicherte Nahrungsmittel (z.B. Margarine mit Zusatz von Vitamin E)?

- nie
- gelegentlich
- täglich

20. Wie oft trinken Sie Multivitaminsaft oder mit Vitaminen angereicherte Getränke (z.B. ACE-Getränke)?

- nie
- gelegentlich
- täglich

21. Besteht bei Ihnen eine Nahrungsmittelallergie oder –unverträglichkeit?

- nein
- ja, und zwar gegen
-
-

22. Haben Sie eine persönliche Abneigung gegen bestimmte Nahrungsmittel?

- nein
- ja, und zwar gegen.....
-
-

Fragen zur Studie

23. Sind Sie bereit, an den insgesamt 3 Blutentnahmetagen jeweils insgesamt 8 Blutentnahmen durchführen zu lassen die von uns an diesen Tagen angebotenen Mahlzeiten und Trinkvorgaben einzuhalten?

- nein
- ja

24. Sind Sie bereit, 2 Wochen vor Studienbeginn und bis Ende der Studie auf Vitamin-E-haltige Nahrungsergänzungsmittel, Vitamin-E-angereicherte und -reiche Lebensmittel zu verzichten?

- nein
- ja

25. Sind Sie bereit, 2 Wochen vor Studienbeginn und bis Ende der Studie einmal täglich das von uns ausgeteilte Vitamin-C-Präparat zu verzehren?

- nein
- ja

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit!

A 1.1.4 CRF-Ernährung**Ernährungserhebung (CRF Ernährung)**

zur Studie

**„Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Vitamin E
aus drei Lebensmittelmatrizes“****Sehr geehrter Studienteilnehmer,**

zur Beschreibung Ihrer allgemein üblichen Ernährungsweise bzw. Ihrer durchschnittlichen Aufnahmemenge an Vitamin E, benötigen wir einige Angaben zu Ihren alltäglichen Ernährungsgewohnheiten. Bitte beantworten Sie die Fragen so genau wie möglich. Dabei ist Ihre **übliche Ernährungsweise** entscheidend und nicht die jetzige, d. h. nicht die Zeit vor und während der Untersuchung.

Die Auswertung des Fragebogens erfolgt nur zu wissenschaftlichen Zwecken. Persönliche Daten werden vertraulich behandelt und nicht an Dritte weitergegeben.

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit!

Probanden-ID:

1. Wenn Sie pflanzliche Öle verwenden, welche sind das in der Regel?

- Maiskeimöl
- Olivenöl
- Rapsöl
- Sonnenblumenöl
- Weizenkeimöl
- Sonstige

Bei welcher Gelegenheit verwenden Sie pflanzliche Öle?

- Salatsoße
- Kochen
- Braten
- Backen
- Sonstiges

2. Wenn Sie pflanzliche Fette (z.B. Margarine) verwenden, geben Sie bitte den genauen Namen der Produkte an?

- Becel®
- Becel® pro aktiv
- Bertolli®
- Lätta®
- Rama®
- Deli-reform®
- Sonstige

Bei welcher Gelegenheit verwenden Sie pflanzliche Fette?

- Brotaufstrich
- Kochen
- Braten
- Backen
- Sonstiges

3. Nehmen Sie Vitamin- oder Mineralstoffpräparate ein (z.B. Brausetabletten, Kautabletten, Dragees)?

- nein
- ja, gelegentlich
- ja, wöchentlich
- ja, täglich

Bitte nennen Sie den genauen Namen der Präparate, den Hersteller wie auch die jeweilige Dosierung!

Name des Präparates	Hersteller	Dosierung	
<i>z.B. EUNOVA® Langzeit</i>	<i>Firma X,Y</i>	<i>3 x 1 Tablette</i>	<input type="radio"/> täglich
<i>z.B. Omega-3-Fischölkapseln</i>			<input type="radio"/> wöchentlich
			<input type="radio"/> gelegentlich
			<input type="radio"/> täglich
			<input type="radio"/> wöchentlich
			<input type="radio"/> gelegentlich
			<input type="radio"/> täglich
			<input type="radio"/> wöchentlich
			<input type="radio"/> gelegentlich

4. Essen Sie mit Vitamin E angereicherte Nahrungsmittel (z.B. Margarine mit Zusatz von Vitamin E)?

- nein
- gelegentlich
- täglich

5. Trinken Sie Multivitaminsaft oder mit Vitaminen angereicherte Getränke (z.B. ACE-Getränke)?

- nein
- gelegentlich
- täglich

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit!

A 1.1.5 CRF-Intervention (t₀)**Patientendokumentationsbogen (CRF)**

zu der Studie

„Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Vitamin E
aus drei Lebensmittelmatrizes“

Untersuchungsdatum: **XXX / XXX**

Probanden-ID:

Die in diesem Fragebogen erhobenen Daten werden vertraulich behandelt sowie pseudonymisiert protokolliert und bearbeitet.

Anthropometrische Daten**Größe:** (wird vom Prüfer eingetragen)**Gewicht:** (wird vom Prüfer eingetragen)**BMI:** (wird vom Prüfer eingetragen)**Gesundheitszustand****1. Fühlen Sie sich heute gesund?**

- ja
 nein

2. Nehmen Sie derzeit Medikamente ein?

- nein
 ja und zwar
-
-

Studienbedingungen

3. Sind Sie nüchtern?

- ja
- nein

4. Zu welcher Uhrzeit haben Sie gestern zuletzt etwas gegessen?

.....Uhr

5. Haben Sie in den letzten zwei Wochen auf Vitamin-E-reiche und -angereicherte Lebensmittel verzichtet sowie Vitamin-E-haltige Supplemente abgesetzt?

- ja die ganze Zeit
- ja bis auf (Bitte geben Sie die Häufigkeit und das Lebensmittel an!)

.....
.....

- nein, weil.....
.....

6. Haben Sie in den letzten zwei Wochen täglich das Vitamin-C-Präparat eingenommen?

- ja die ganze Zeit
- ja bis auf (Bitte geben Sie die Häufigkeit an!)

.....
.....

- nein, weil.....
.....

⇒ weiter auf nachfolgender Seite

Studienbeschreibung

Nach der Nüchternblutentnahme erhalten Sie ein Frühstück mit der jeweils zu untersuchenden Vitamin-E-Kapsel, das Sie bitte komplett aufessen. Zu den unten stehenden Terminen für die weiteren Mahlzeiten und Blutentnahmen, finden Sie sich bitte wieder im Institut ein. Bitte essen Sie in dieser Untersuchungszeit (**bis nach der letzten Blutabnahme am Freitag morgen**) nur die von uns ausgegebenen Mahlzeiten und trinken Sie bitte nur Wasser, Kaffee oder Tee. Wir bitten Sie, Kaffee bzw. Tee nur schwarz oder mit Süßstoff zu trinken, also nicht mit Milch oder Zucker. Die Mahlzeiten werden im **Raum 234** serviert.

Frühstücksbeginn:		7:00 Uhr
Weitere Termine:		
	Zwischenmahlzeit	9:30 Uhr
	2. Blutentnahme	10:00 Uhr
	3. Blutentnahme	11:30 Uhr
	Mittagessen	12:00 Uhr
	4. Blutentnahme	13:00 Uhr
	5. Blutentnahme	14:30 Uhr
	Zwischenmahlzeit	15:00 Uhr
	6. Blutentnahme	16:00 Uhr
	Abendessen	18:00 Uhr
	7. Blutentnahme	19:00 Uhr
	Zwischenmahlzeit	20:00 Uhr
	8. Blutentnahme	Freitag 7:00 Uhr

Bitte denken Sie auch weiterhin daran, auf Vitamin-E-reiche und -angereicherte Lebensmittel sowie Vitamin-E-haltige Supplemente zu verzichten und täglich das Vitamin-C-Präparat einzunehmen.

Diese Seite können Sie für Ihre persönlichen Unterlagen aufbewahren.

Wir danken Ihnen herzlich für Ihre Teilnahme!

A 1.1.6 CRF-Intervention (t₁/ t₂/ t₃)**Patientendokumentationsbogen (CRF)**

zu der Studie

*„Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Vitamin E
aus drei Lebensmittelmatrizes“*

Untersuchungsdatum: **XXX**

Probanden-ID:

Die in diesem Fragebogen erhobenen Daten werden vertraulich behandelt sowie pseudonymisiert protokolliert und bearbeitet.

Gesundheitszustand**7. Fühlen Sie sich heute gesund?**

- ja
 nein

8. Nehmen Sie derzeit Medikamente ein?

- nein
 ja und zwar

Studienbedingungen**9. Sind Sie nüchtern?**

- ja
 nein

10. Zu welcher Uhrzeit haben Sie gestern zuletzt etwas gegessen?

.....Uhr

11. Haben Sie in der letzten Woche auf Vitamin-E-reiche und -angereicherte Lebensmittel verzichtet sowie Vitamin-E-haltige Supplemente abgesetzt?

- ja die ganze Zeit
- ja bis auf (Bitte geben Sie die Häufigkeit und das Lebensmittel an!)

- nein, weil.....

12. Haben Sie in der letzten Woche täglich das Vitamin-C-Präparat eingenommen?

- ja die ganze Zeit
- ja bis auf (Bitte geben Sie die Häufigkeit an!)

- nein, weil.....

Auftreten unerwünschter Ereignisse

Alle im Rahmen der Prüfung beobachteten Befindlichkeitsstörungen, subjektiven und objektiven Krankheitssymptome und Unfälle, unabhängig von einem möglichen ursächlichen Zusammenhang mit dem Prüfprodukt werden als unerwünschte Ereignisse angesehen.

13. Ist / Sind bei Ihnen in der letzten Woche ein unerwünschtes Ereignis / unerwünschte Ereignisse nach der Einnahme des Prüfprodukts eingetreten?

- nein ⇒ bei „nein“ weiter auf nachfolgender Seite
- ja, und zwar

14. War das Symptom / das unerwünschte Ereignis bereits vor Beginn der Studie bekannt?

- nein
- ja

15. Wie häufig traten die unerwünschten Ereignisse auf?

- nach jeder Einnahme des zu untersuchenden Prüfprodukts
- am
- (Datum)

16. Wie lange hielten die Beschwerden an?

- bis zu 30 Minuten
- länger als 30 Minuten, aber weniger als eine Stunde
- 1 Stunde oder länger

17. Haben Sie Maßnahmen getroffen, um die Beschwerden einzudämmen?

- nein
- ja, ich habe Medikamente genommen, um die Beschwerden zu lindern
- ja, ich habe diesbezüglich einen Arzt aufgesucht

Was wurde Ihnen geraten?

.....

.....

⇒ *weiter auf nachfolgender Seite*

Studienbeschreibung

Nach der Nüchternblutentnahme erhalten Sie ein Frühstück mit dem jeweils zu untersuchenden mit Vitamin E angereicherten Lebensmittel das Sie bitte komplett aufessen. Zu den unten stehenden Terminen für die weiteren Mahlzeiten und Blutentnahmen, finden Sie sich bitte wieder im Institut ein. Bitte essen Sie in dieser Untersuchungszeit (**bis nach der letzten Blutabnahme am Freitag morgen**) nur die von uns ausgegebenen Mahlzeiten und trinken Sie bitte nur Wasser, Kaffee oder Tee. Wir bitten Sie, Kaffee bzw. Tee nur schwarz oder mit Süßstoff zu trinken, also nicht mit Milch oder Zucker. Die Mahlzeiten werden im **Raum 234** serviert.

Frühstücksbeginn:		7:00 Uhr
Weitere Termine:		
	Zwischenmahlzeit	9:30 Uhr
	2. Blutentnahme	10:00 Uhr
	3. Blutentnahme	11:30 Uhr
	Mittagessen	12:00 Uhr
	4. Blutentnahme	13:00 Uhr
	5. Blutentnahme	14:30 Uhr
	Zwischenmahlzeit	15:00 Uhr
	6. Blutentnahme	16:00 Uhr
	Abendessen	18:00 Uhr
	7. Blutentnahme	19:00 Uhr
	Zwischenmahlzeit	20:00 Uhr
	8. Blutentnahme	Freitag 7:00 Uhr

Bitte denken Sie auch weiterhin daran, auf Vitamin-E-reiche und -angereicherte Lebensmittel sowie Vitamin-E-haltige Supplemente zu verzichten und täglich das Vitamin-C-Präparat einzunehmen.

Diese Seite können Sie für Ihre persönlichen Unterlagen aufbewahren.

Wir danken Ihnen herzlich für Ihre Teilnahme!

A 1.2 Zusammensetzung der Kost

Tabelle A 1: Nährstoffzusammensetzung des standardisierten Frühstücks

Lebensmittel	Menge [g]	Energie [KJ / kcal]	Protein [g]	Fett [g]	KH [g]	Vitamin E [g]
Weißmehlbrötchen	120,0	1356 / 329	10,4	2,3	66,6	0,5
Butter	20,0	631 / 151	0,1	16,6	0,1	0,4
Gouda	33,3	478 / 114	7,6	9,3	0,0	0,3
Kochschinken	50,0	262 / 63	11,3	1,9	0,0	0,2
Gesamt		2727 / 657	29,4	30,1	66,7	1,3

A 1.3 Spezifikationen

A 1.3.1 Covitol® F-1370

Tabelle A 2: Zusammensetzung Covitol® F-1370 pro g

Substanz	Menge
RRR- α -Tocopherol* [mg]	919 mg
Säuren [ml]	max. 1
Schwermetalle (Blei, Pb) [mg/kg]	max. 10

* überwiegend aus Soja

Bedingt durch die natürliche Herkunft der Rohstoffe und dem Herstellungsprozess können geringe Mengen an Nicht- α -Tocopherolen und/oder andere natürliche Pflanzenbestandteile im Produkt enthalten sein.

A 1.3.2 Miglyol® 812 N

Tabelle A 3: Zusammensetzung Miglyol® 812N

Substanz	Menge [%]
Capronsäure (C6:0)	max. 2
Caprylsäure (C8:0)	50-65
Caprinsäure (C10:0)	30-45
Laurinsäure (C12:0)	max. 2
Myristinsäure (C14:0)	max. 1

A 2 Biokinetische Parameter

A 2.1 Prozentuale Veränderungen der α -Tocopherol-Serumkonzentrationen

A 2.1.1 Studienphase I

Tabelle A 4: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (mittlerer Rang) des Frischkäse, Mayonnaise- und Puddingkollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	Pudding	p*
α -Tocopherol	9,4	8,0	6,6	0,613
α -Tocopherol/TC	10,0	7,4	6,6	0,454
α -Tocopherol/TC+TG	10,7	7,5	5,8	0,212

* H-Test nach Kruskal und Wallis für unabhängige Stichproben (Frischkäse-, Mayonnaise-Puddingkollektiv)

Tabelle A 5: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration von α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	p*
α -Tocopherol [%]	+3,3 \pm 8,1	-0,8 \pm 9,7	0,743
α -Tocopherol/TC [%]	+9,1 \pm 6,6	+11,5 \pm 6,1	0,507
α -Tocopherol/TC+TG [%]	+5,4 \pm 6,9	+1,6 \pm 7,9	0,306

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Mayonnaisekollektiv)

Tabelle A 6: Prozentuale Veränderung der Serumkonzentrationen von α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Puddingkollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Frischkäse	Pudding	p*
α -Tocopherol [%]	+3,3 \pm 8,1	+4,4 \pm 6,1	0,433
α -Tocopherol/TC [%]	+9,1 \pm 6,6	+8,5 \pm 7,7	0,459
α -Tocopherol/TC+TG [%]	+5,4 \pm 6,9	+2,0 \pm 6,7	0,040

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Puddingkollektiv)

Tabelle A 7: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) des Mayonnaise- und Puddingkollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Mayonnaise	Pudding	p*
α -Tocopherol [%]	-0,8 \pm 9,7	+4,4 \pm 6,1	0,730
α -Tocopherol/TC [%]	+11,5 \pm 6,1	+8,5 \pm 7,7	0,874
α -Tocopherol/TC+TG [%]	+1,6 \pm 7,9	+2,0 \pm 6,7	0,416

* t-Test für unabhängige Stichproben (Mayonnaise- vs. Puddingkollektiv)

A 2.1.2 Studienphase II

A 2.1.2.1 Kurzzeitkinetik

Tabelle A 8: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, n=5

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	p*
α -Tocopherol [%]	+20,6 \pm 15,3	+11,5 \pm 7,6	0,698
α -Tocopherol/TC [%]	+28,3 \pm 19,1	+11,6 \pm 9,2	0,476
α -Tocopherol/TC+TG [%]	-9,1 \pm 27,7	+4,9 \pm 7,1	0,341

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Mayonnaisekollektiv)

A 2.1.2.2 Langzeitkinetik

Tabelle A 9: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Langzeitkinetik der Studienphase II, n=9

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	p*
α -Tocopherol [%]	+20,6 \pm 15,3	+7,4 \pm 14,1	0,027
α -Tocopherol/TC [%]	+28,3 \pm 19,1	+10,8 \pm 11,9	0,007
α -Tocopherol/TC+TG [%]	-9,1 \pm 27,7	+6,4 \pm 12,3	0,021

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Mayonnaisekollektiv)

A 2.1.3 Studienphase III

Tabelle A 10: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (mittlerer Rang) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße, Frischkäse normale und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	kleine Partikel	normale Partikel	große Partikel	p*
α -Tocopherol	11,6	8,1	13,3	0,287
α -Tocopherol/TC	12,4	7,0	13,6	0,104
α -Tocopherol/TC+TG	14,1	8,2	10,6	0,198

* H-Test nach Kruskal und Wallis für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse kleine Partikel, Kollektiv Frischkäse normale Partikel, Kollektiv Frischkäse große Partikel)

Tabelle A 11: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße und Frischkäse normale Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	kleine Partikel	normale Partikel	p*
α -Tocopherol [%]	+8,1 \pm 13,0	+5,7 \pm 9,5	0,396
α -Tocopherol/TC [%]	+13,5 \pm 10,2	+10,9 \pm 6,1	0,116
α -Tocopherol/TC+TG [%]	0,0 \pm 6,7	0,0 \pm 5,1	0,110

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse kleine Partikel vs. Kollektiv Frischkäse normale Partikel)

Tabelle A 12: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse normal Partikelgröße und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	normale Partikel	große Partikel	p*
α -Tocopherol [%]	+5,7 \pm 9,5	+9,7 \pm 9,6	0,115
α -Tocopherol/TC [%]	+10,9 \pm 6,1	+11,8 \pm 27,4	0,111
α -Tocopherol/TC+TG [%]	0,0 \pm 5,1	0,0 \pm 8,6	0,377

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse normale Partikel vs. Kollektiv Frischkäse große Partikel)

Tabelle A 13: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	kleine Partikel	große Partikel	p*
α -Tocopherol [%]	+20,6 \pm 15,3	+7,4 \pm 14,1	0,600
α -Tocopherol/TC [%]	+28,3 \pm 19,1	+10,8 \pm 11,9	0,355
α -Tocopherol/TC+TG [%]	-9,1 \pm 27,7	+6,4 \pm 12,3	0,631

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse kleine Partikel vs. Kollektiv Frischkäse große Partikel)

A 2.1.4 Studienphase IV

Tabelle A 14: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (mittlerer Rang) Emulsion pH-Wert 6,5; Emulsion pH-Wert 4,5; Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5	pH-Wert 4,5	pH-Wert 6,5 getrocknet	pH-Wert 4,5 getrocknet	p*
α -Tocopherol	12,8	21,4	15,6	16,3	0,319
α -Tocopherol/TC	13,1	21,6	17,0	14,3	0,272
α -Tocopherol/TC+TG	17,5	21,4	13,7	13,4	0,271

* H-Test nach Kruskal und Wallis für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 6,5, Emulsion pH-Wert 4,5, Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5)

Tabelle A 15: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5	pH-Wert 4,5	p*
α -Tocopherol [%]	+10,8 \pm 5,7	+17,6 \pm 6,2	0,037
α -Tocopherol/TC [%]	+11,7 \pm 4,6	+18,0 \pm 7,6	0,065
α -Tocopherol/TC+TG [%]	+2,8 \pm 11,9	+9,4 \pm 11,1	0,270

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion pH-Wert 4,5)

Tabelle A 16: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5 getrocknet	pH-Wert 4,5 getrocknet	p*
α -Tocopherol [%]	+14,6 \pm 12,7	+12,9 \pm 7,7	0,741
α -Tocopherol/TC [%]	+16,0 \pm 10,1	+12,3 \pm 5,1	0,363
α -Tocopherol/TC+TG [%]	+1,8 \pm 13,0	-0,2 \pm 8,9	0,730

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5)

Tabelle A 17: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5	pH-Wert 6,5 getrocknet	p*
α -Tocopherol [%]	+10,8 \pm 5,7	+14,6 \pm 12,7	0,444
α -Tocopherol/TC [%]	+11,7 \pm 4,6	+16,0 \pm 10,1	0,288
α -Tocopherol/TC+TG [%]	+2,8 \pm 11,9	+1,8 \pm 13,0	0,873

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5)

Tabelle A 18: Prozentuale Veränderung der Nüchternserumkonzentrationen zur maximalen Konzentration α -Tocopherol, α -Tocopherol/TC und α -Tocopherol/TC + TG (Mittelwert \pm SD) Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 4,5	pH-Wert 4,5 getrocknet	p*
α -Tocopherol [%]	+17,6 \pm 6,2	+12,9 \pm 7,7	0,194
α -Tocopherol/TC [%]	+18,0 \pm 7,6	+12,3 \pm 5,1	0,099
α -Tocopherol/TC+TG [%]	+9,4 \pm 11,1	-0,2 \pm 8,9	0,078

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 4,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5)

A 2.2 α -Tocopherol-Serumkonzentrationen zu den einzelnen Blutentnahmezeitpunkten

A 2.2.1 Studienphase I

Tabelle A 19: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, mittlerer Rang) des Frischkäse-, Pudding- und Mayonnaisekollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	Pudding	p*
α -Tocopherol zu t ₁	7,5	8,4	8,1	0,948
α -Tocopherol zu t ₃	8,4	6,3	9,3	0,552
α -Tocopherol zu t ₅	9,5	7,6	6,9	0,635
α -Tocopherol zu t ₇	8,2	9,2	6,6	0,650
α -Tocopherol zu t ₉	8,6	8,8	6,6	0,689
α -Tocopherol zu t ₁₂	8,4	9,0	6,6	0,677
α -Tocopherol zu t ₂₄	8,4	8,0	7,6	0,961
α -Tocopherol/TC zu t ₁	6,1	6,1	11,8	0,061
α -Tocopherol/TC zu t ₃	9,4	4,3	10,3	0,070
α -Tocopherol/TC zu t ₅	11,5	6,2	6,3	0,094
α -Tocopherol/TC zu t ₇	9,1	8,4	6,5	0,634
α -Tocopherol/TC zu t ₉	9,0	7,7	7,3	0,818
α -Tocopherol/TC zu t ₁₂	8,5	7,5	8,0	0,939
α -Tocopherol/TC zu t ₂₄	10,1	6,6	7,3	0,420
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₁	9,3	6,7	8,0	0,648
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₃	10,7	3,9	9,4	0,034
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₅	12,6	5,3	6,1	0,017
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₇	11,2	7,0	5,8	0,130
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₉	10,6	7,6	5,8	0,224
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₁₂	10,1	6,9	7,0	0,433
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₂₄	10,9	6,3	6,8	0,200

* H-Test nach Kruskal und Wallis für unabhängige Stichproben (Frischkäse-, Mayonnaise-Puddingkollektiv)

Tabelle A 20: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	p*
α -Tocopherol zu t ₁ [μ mol/l]	-1,2 \pm 0,5	-1,4 \pm 2,5	0,845
α -Tocopherol zu t ₃ [μ mol/l]	2,1 \pm 1,8	1,2 \pm 1,8	0,433
α -Tocopherol zu t ₅ [μ mol/l]	3,4 \pm 2,1	2,7 \pm 3,1	0,705
α -Tocopherol zu t ₇ [μ mol/l]	3,3 \pm 2,0	3,8 \pm 2,7	0,789
α -Tocopherol zu t ₉ [μ mol/l]	2,3 \pm 2,1	2,6 \pm 2,5	0,830
α -Tocopherol zu t ₁₂ [μ mol/l]	2,1 \pm 2,1	2,6 \pm 2,4	0,703
α -Tocopherol zu t ₂₄ [μ mol/l]	3,3 \pm 3,0	2,6 \pm 2,4	0,680
α -Tocopherol/TC zu t ₁ [μ mol/l]	-0,0002 \pm 0,0001	-0,0002 \pm 0,0002	0,849
α -Tocopherol/TC zu t ₃ [μ mol/l]	0,0006 \pm 0,0003	0,0002 \pm 0,0003	0,077
α -Tocopherol/TC zu t ₅ [μ mol/l]	0,0009 \pm 0,0003	0,0004 \pm 0,0004	0,097
α -Tocopherol/TC zu t ₇ [μ mol/l]	0,001 \pm 0,0003	0,001 \pm 0,0003	0,822
α -Tocopherol/TC zu t ₉ [μ mol/l]	0,0007 \pm 0,0004	0,0006 \pm 0,0003	0,793
α -Tocopherol/TC zu t ₁₂ [μ mol/l]	0,0005 \pm 0,0002	0,0005 \pm 0,0004	0,920
α -Tocopherol/TC zu t ₂₄ [μ mol/l]	0,0009 \pm 0,0003	0,0004 \pm 0,0004	0,112
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₁ [μ mol/l]	-0,0002 \pm 0,0001	-0,0003 \pm 0,0002	0,347
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₃ [μ mol/l]	0,0003 \pm 0,0002	-0,0001 \pm 0,0003	0,019
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₅ [μ mol/l]	0,0006 \pm 0,0002	0,0002 \pm 0,0002	0,007
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₇ [μ mol/l]	0,0007 \pm 0,0002	0,0004 \pm 0,0003	0,062
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₉ [μ mol/l]	0,0008 \pm 0,0003	0,0006 \pm 0,0003	0,276
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₁₂ [μ mol/l]	0,0001 \pm 0,0002	-0,0002 \pm 0,0006	0,225
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₂₄ [μ mol/l]	0,0008 \pm 0,0004	0,0003 \pm 0,0003	0,042

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Mayonnaisekollektiv)

Tabelle A 21: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Puddingkollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Frischkäse	Pudding	p*
α -Tocopherol zu t ₁ [μ mol/l]	-1,2 \pm 0,5	-0,8 \pm 1,6	0,588
α -Tocopherol zu t ₃ [μ mol/l]	2,1 \pm 1,8	2,3 \pm 2,2	0,888
α -Tocopherol zu t ₅ [μ mol/l]	3,4 \pm 2,1	2,0 \pm 1,9	0,277
α -Tocopherol zu t ₇ [μ mol/l]	3,3 \pm 2,0	2,1 \pm 2,8	0,459
α -Tocopherol zu t ₉ [μ mol/l]	2,3 \pm 2,1	1,8 \pm 1,6	0,676
α -Tocopherol zu t ₁₂ [μ mol/l]	2,1 \pm 2,1	1,3 \pm 2,3	0,585
α -Tocopherol zu t ₂₄ [μ mol/l]	3,3 \pm 3,0	2,3 \pm 2,8	0,576
α -Tocopherol/TC zu t ₁ [μ mol/l]	-0,0002 \pm 0,0001	0,0001 \pm 0,0002	0,012
α -Tocopherol/TC zu t ₃ [μ mol/l]	0,0006 \pm 0,0003	0,0007 \pm 0,0004	0,768
α -Tocopherol/TC zu t ₅ [μ mol/l]	0,0009 \pm 0,0003	0,0004 \pm 0,0002	0,020
α -Tocopherol/TC zu t ₇ [μ mol/l]	0,001 \pm 0,0003	0,0007 \pm 0,0006	0,331
α -Tocopherol/TC zu t ₉ [μ mol/l]	0,0007 \pm 0,0004	0,0005 \pm 0,0005	0,528
α -Tocopherol/TC zu t ₁₂ [μ mol/l]	0,0005 \pm 0,0002	0,0005 \pm 0,0005	0,939
α -Tocopherol/TC zu t ₂₄ [μ mol/l]	0,0009 \pm 0,0003	0,0005 \pm 0,0009	0,465
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₁ [μ mol/l]	-0,0002 \pm 0,0001	-0,0003 \pm 0,0003	0,582
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₃ [μ mol/l]	0,0003 \pm 0,0002	0,0002 \pm 0,0001	0,540
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₅ [μ mol/l]	0,0006 \pm 0,0002	0,0003 \pm 0,0001	0,004
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₇ [μ mol/l]	0,0007 \pm 0,0002	0,0002 \pm 0,0005	0,087
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₉ [μ mol/l]	0,0008 \pm 0,0003	0,0004 \pm 0,0003	0,094
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₁₂ [μ mol/l]	0,0001 \pm 0,0002	-0,0002 \pm 0,0007	0,304
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₂₄ [μ mol/l]	0,0008 \pm 0,0004	0,0004 \pm 0,0008	0,284

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Puddingkollektiv)

Tabelle A 22: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Mayonnaise- und Puddingkollektivs der Studienphase I, n=5

Parameter	Mayonnaise	Pudding	p*
α -Tocopherol zu t ₁ [μ mol/l]	-1,4 \pm 2,5	-0,8 \pm 1,6	0,632
α -Tocopherol zu t ₃ [μ mol/l]	1,2 \pm 1,8	2,3 \pm 2,2	0,409
α -Tocopherol zu t ₅ [μ mol/l]	2,7 \pm 3,1	2,0 \pm 1,9	0,637
α -Tocopherol zu t ₇ [μ mol/l]	3,8 \pm 2,7	2,1 \pm 2,8	0,384
α -Tocopherol zu t ₉ [μ mol/l]	2,6 \pm 2,5	1,8 \pm 1,6	0,550
α -Tocopherol zu t ₁₂ [μ mol/l]	2,6 \pm 2,4	1,3 \pm 2,3	0,392
α -Tocopherol zu t ₂₄ [μ mol/l]	2,6 \pm 2,4	2,3 \pm 2,8	0,848
α -Tocopherol/TC zu t ₁ [μ mol/l]	-0,0002 \pm 0,0002	0,0001 \pm 0,0002	0,064
α -Tocopherol/TC zu t ₃ [μ mol/l]	0,0002 \pm 0,0003	0,0007 \pm 0,0004	0,077
α -Tocopherol/TC zu t ₅ [μ mol/l]	0,0004 \pm 0,0004	0,0004 \pm 0,0002	0,856
α -Tocopherol/TC zu t ₇ [μ mol/l]	0,0010 \pm 0,0003	0,0007 \pm 0,0006	0,391
α -Tocopherol/TC zu t ₉ [μ mol/l]	0,0006 \pm 0,0003	0,0005 \pm 0,0005	0,663
α -Tocopherol/TC zu t ₁₂ [μ mol/l]	0,0005 \pm 0,0004	0,0005 \pm 0,0005	1,000
α -Tocopherol/TC zu t ₂₄ [μ mol/l]	0,0004 \pm 0,0004	0,0005 \pm 0,0009	0,862
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₁ [μ mol/l]	-0,0003 \pm 0,0002	-0,0003 \pm 0,0003	0,903
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₃ [μ mol/l]	-0,0001 \pm 0,0003	0,0002 \pm 0,0001	0,031
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₅ [μ mol/l]	0,0002 \pm 0,0002	0,0003 \pm 0,0001	0,713
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₇ [μ mol/l]	0,0004 \pm 0,0003	0,0002 \pm 0,0005	0,598
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₉ [μ mol/l]	0,0006 \pm 0,0003	0,0004 \pm 0,0003	0,439
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₁₂ [μ mol/l]	-0,0002 \pm 0,0006	-0,0002 \pm 0,0007	1,000
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₂₄ [μ mol/l]	0,0003 \pm 0,0003	0,0004 \pm 0,0008	0,917

* t-Test für unabhängige Stichproben (Mayonnaise- vs. Puddingkollektiv)

A 2.2.2 Studienphase II

A 2.2.2.1 Kurzzeitkinetik

Tabelle A 23: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Kurzzeitkinetik der Studienphase II, n=5

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	p*
α -Tocopherol zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	2,6 \pm 1,3	1,4 \pm 2,7	0,390
α -Tocopherol zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	5,0 \pm 2,3	4,4 \pm 1,9	0,666
α -Tocopherol zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	5,6 \pm 3,0	3,1 \pm 1,1	0,120
α -Tocopherol zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	4,5 \pm 1,7	3,4 \pm 1,3	0,275
α -Tocopherol zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	3,8 \pm 2,0	4,5 \pm 1,0	0,503
α -Tocopherol/TC zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0005	0,0003 \pm 0,0005	0,246
α -Tocopherol/TC zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0013 \pm 0,0008	0,0011 \pm 0,0005	0,592
α -Tocopherol/TC zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0015 \pm 0,0013	0,0007 \pm 0,0003	0,215
α -Tocopherol/TC zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0011 \pm 0,0004	0,0009 \pm 0,0003	0,233
α -Tocopherol/TC zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0010 \pm 0,0003	0,0008 \pm 0,0002	0,463
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0001 \pm 0,0003	-0,0001 \pm 0,0002	0,885
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0003	0,0004 \pm 0,0002	0,442
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0013 \pm 0,0011	0,0007 \pm 0,0003	0,271
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0004	0,0004 \pm 0,0003	0,174
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0004	0,0006 \pm 0,0002	0,428

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Mayonnaisekollektiv)

A 2.2.2.2 Langzeitkinetik

Tabelle A 24: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Frischkäse- und Mayonnaisekollektivs der Langzeitkinetik der Studienphase II, n=9

Parameter	Frischkäse	Mayonnaise	p*
α -Tocopherol zu t ₁ [μ mol/l]	7,4 \pm 3,9	8,0 \pm 4,7	0,744
α -Tocopherol zu t ₂ [μ mol/l]	6,7 \pm 4,3	4,7 \pm 2,8	0,278
α -Tocopherol zu t ₃ [μ mol/l]	3,7 \pm 6,6	4,4 \pm 2,6	0,781
α -Tocopherol zu t ₄ [μ mol/l]	5,7 \pm 6,6	3,3 \pm 3,0	0,331
α -Tocopherol/TC zu t ₁ [μ mol/l]	0,0026 \pm 0,0008	0,0017 \pm 0,0007	0,014
α -Tocopherol/TC zu t ₂ [μ mol/l]	0,0021 \pm 0,0008	0,0011 \pm 0,0009	0,025
α -Tocopherol/TC zu t ₃ [μ mol/l]	0,0016 \pm 0,0014	0,0007 \pm 0,0007	0,120
α -Tocopherol/TC zu t ₄ [μ mol/l]	0,0017 \pm 0,0011	0,0008 \pm 0,0009	0,075
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₁ [μ mol/l]	0,0015 \pm 0,0007	0,001 \pm 0,0005	0,097
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₂ [μ mol/l]	0,0011 \pm 0,0006	0,0006 \pm 0,0004	0,092
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₃ [μ mol/l]	0,0007 \pm 0,0008	0,0004 \pm 0,0008	0,537
α -Tocopherol/TC+TG zu t ₄ [μ mol/l]	0,0013 \pm 0,0009	0,0002 \pm 0,0004	0,010

* t-Test für unabhängige Stichproben (Frischkäse- vs. Mayonnaisekollektiv)

A 2.2.3 Studienphase III

Tabelle A 25: Biokinetischen Parameter (Differenz zum Nüchternwert, mittlerer Rang) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße, Frischkäse normale und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	kleine Partikel	normale Partikel	große Partikel	p*
α -Tocopherol zu t_3	12,6	8,1	12,3	0,326
α -Tocopherol zu $t_{4,5}$	11,9	7,9	13,1	0,257
α -Tocopherol zu t_6	11,6	9,0	12,4	0,565
α -Tocopherol zu $t_{7,5}$	11,3	10,3	11,4	0,932
α -Tocopherol zu t_9	11,7	8,4	12,9	0,381
α -Tocopherol zu t_{12}	9,6	8,5	14,9	0,124
α -Tocopherol zu t_{24}	12,3	9,1	11,6	0,590
α -Tocopherol/TC zu t_3	13,6	6,6	12,8	0,071
α -Tocopherol/TC zu $t_{4,5}$	12,0	8,9	12,1	0,528
α -Tocopherol/TC zu t_6	10,9	8,9	13,3	0,406
α -Tocopherol/TC zu $t_{7,5}$	10,9	11,7	10,4	0,924
α -Tocopherol/TC zu t_9	13,3	8,3	11,4	0,307
α -Tocopherol/TC zu t_{12}	7,4	10,2	15,4	0,051
α -Tocopherol/TC zu t_{24}	11,8	8,1	13,1	0,297
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3	12,9	10,1	9,9	0,595
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{4,5}$	11,7	10,1	11,1	0,888
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6	10,1	9,8	13,1	0,548
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{7,5}$	10,9	13,6	8,6	0,317
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9	11,8	10,9	10,4	0,908
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12}	9,5	10,3	13,2	0,493
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24}	12,2	9,3	11,5	0,650

* H-Test nach Kruskal und Wallis für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse kleine Partikel, Kollektiv Frischkäse normale Partikel, Kollektiv Frischkäse große Partikel)

Tabelle A 26: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße und Frischkäse normale Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	kleine Partikel	normale Partikel	p*
α -Tocopherol zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	4,9 \pm 2,6	3,0 \pm 2,3	0,160
α -Tocopherol zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	5,5 \pm 3,6	3,5 \pm 2,0	0,229
α -Tocopherol zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	5,2 \pm 3,9	3,8 \pm 2,6	0,446
α -Tocopherol zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	4,9 \pm 4,0	4,1 \pm 2,9	0,693
α -Tocopherol zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	5,3 \pm 2,4	3,8 \pm 2,3	0,272
α -Tocopherol zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	3,6 \pm 3,3	3,2 \pm 2,7	0,780
α -Tocopherol zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	4,2 \pm 1,8	3,4 \pm 2,9	0,545
α -Tocopherol/TC zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0011 \pm 0,0005	0,0006 \pm 0,0002	0,036
α -Tocopherol/TC zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0012 \pm 0,0009	0,0007 \pm 0,0002	0,171
α -Tocopherol/TC zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0010 \pm 0,0006	0,0008 \pm 0,0003	0,511
α -Tocopherol/TC zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0010 \pm 0,0006	0,0009 \pm 0,0003	0,775
α -Tocopherol/TC zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0009 \pm 0,0002	0,0007 \pm 0,0003	0,191
α -Tocopherol/TC zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0005 \pm 0,0004	0,0006 \pm 0,0005	0,563
α -Tocopherol/TC zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0003	0,0006 \pm 0,0004	0,208
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0002 \pm 0,0004	0,0001 \pm 0,0002	0,330
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0003	0,0003 \pm 0,0001	0,450
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0002 \pm 0,0003	0,0002 \pm 0,0002	0,826
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0006	0,0007 \pm 0,0002	0,898
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0009 \pm 0,0005	0,0007 \pm 0,0001	0,406
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0001 \pm 0,0005	0,0001 \pm 0,0004	0,882
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0003	0,0005 \pm 0,0002	0,381

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse kleine Partikel vs. Kollektiv Frischkäse normale Partikel)

Tabelle A 27: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse normale Partikelgröße und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	normale Partikel	große Partikel	p*
α -Tocopherol zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	3,0 \pm 2,3	4,8 \pm 3,3	0,240
α -Tocopherol zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	3,5 \pm 2,0	5,8 \pm 2,5	0,082
α -Tocopherol zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	3,8 \pm 2,6	5,5 \pm 2,0	0,197
α -Tocopherol zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	4,1 \pm 2,9	4,5 \pm 2,8	0,817
α -Tocopherol zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	3,8 \pm 2,3	5,8 \pm 3,1	0,209
α -Tocopherol zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	3,2 \pm 2,7	5,9 \pm 3,0	0,102
α -Tocopherol zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	3,4 \pm 2,9	4,4 \pm 2,3	0,471
α -Tocopherol/TC zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0002	0,0010 \pm 0,0005	0,064
α -Tocopherol/TC zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0002	0,0010 \pm 0,0004	0,102
α -Tocopherol/TC zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0003	0,0011 \pm 0,0004	0,120
α -Tocopherol/TC zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0009 \pm 0,0003	0,0009 \pm 0,0004	0,883
α -Tocopherol/TC zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0003	0,0009 \pm 0,0004	0,386
α -Tocopherol/TC zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0005	0,0009 \pm 0,0004	0,151
α -Tocopherol/TC zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0004	0,0009 \pm 0,0003	0,149
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0001 \pm 0,0002	0,0001 \pm 0,0003	0,902
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0003 \pm 0,0001	0,0004 \pm 0,0002	0,766
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0002 \pm 0,0002	0,0004 \pm 0,0004	0,214
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0002	0,0005 \pm 0,0004	0,229
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0001	0,0007 \pm 0,0004	0,922
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0001 \pm 0,0004	0,0004 \pm 0,0004	0,251
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0005 \pm 0,0002	0,0006 \pm 0,0003	0,367

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse normale Partikel vs. Kollektiv Frischkäse große Partikel)

Tabelle A 28: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Frischkäse kleine Partikelgröße und Frischkäse große Partikelgröße der Studienphase III, n=7

Parameter	kleine Partikel	große Partikel	p*
α -Tocopherol zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	4,9 \pm 2,6	4,8 \pm 3,3	0,952
α -Tocopherol zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	5,5 \pm 3,6	5,8 \pm 2,5	0,861
α -Tocopherol zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	5,2 \pm 3,9	5,5 \pm 2,0	0,861
α -Tocopherol zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	4,9 \pm 4,0	4,5 \pm 2,8	0,833
α -Tocopherol zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	5,3 \pm 2,4	5,8 \pm 3,1	0,744
α -Tocopherol zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	3,6 \pm 3,3	5,9 \pm 3,0	0,209
α -Tocopherol zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	4,2 \pm 1,8	4,4 \pm 2,3	0,835
α -Tocopherol/TC zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0011 \pm 0,0005	0,0010 \pm 0,0005	0,881
α -Tocopherol/TC zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0012 \pm 0,0009	0,0010 \pm 0,0004	0,588
α -Tocopherol/TC zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0010 \pm 0,0006	0,0011 \pm 0,0004	0,644
α -Tocopherol/TC zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0010 \pm 0,0006	0,0009 \pm 0,0004	0,715
α -Tocopherol/TC zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0009 \pm 0,0002	0,0009 \pm 0,0004	0,882
α -Tocopherol/TC zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0005 \pm 0,0004	0,0009 \pm 0,0004	0,037
α -Tocopherol/TC zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0003	0,0009 \pm 0,0003	0,739
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0002 \pm 0,0004	0,0001 \pm 0,0003	0,333
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0003	0,0004 \pm 0,0002	0,621
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0002 \pm 0,0003	0,0004 \pm 0,0004	0,330
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0006	0,0005 \pm 0,0004	0,362
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0009 \pm 0,0005	0,0007 \pm 0,0004	0,432
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0001 \pm 0,0005	0,0004 \pm 0,0004	0,193
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0003	0,0006 \pm 0,0003	1,000

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Frischkäse kleine Partikel vs. Kollektiv Frischkäse große Partikel)

A 2.2.4 Studienphase IV

Tabelle A 29: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5	pH-Wert 4,5	p*
α -Tocopherol zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	1,2 \pm 1,9	2,4 \pm 2,1	0,241
α -Tocopherol zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	1,5 \pm 2,8	2,7 \pm 2,7	0,393
α -Tocopherol zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	2,1 \pm 2,2	2,3 \pm 1,7	0,818
α -Tocopherol zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	4,2 \pm 2,9	4,1 \pm 1,9	0,925
α -Tocopherol zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	2,8 \pm 3,4	3,9 \pm 0,9	0,416
α -Tocopherol zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	4,0 \pm 1,9	4,5 \pm 1,2	0,519
α -Tocopherol zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	4,8 \pm 3,5	4,0 \pm 1,9	0,587
α -Tocopherol/TC zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0003	0,0007 \pm 0,0006	0,243
α -Tocopherol/TC zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0001 \pm 0,0004	0,0007 \pm 0,0005	0,040
α -Tocopherol/TC zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0004	0,0008 \pm 0,0005	0,094
α -Tocopherol/TC zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0009 \pm 0,0006	0,0010 \pm 0,0004	0,669
α -Tocopherol/TC zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0007	0,0008 \pm 0,0003	0,441
α -Tocopherol/TC zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0006	0,0010 \pm 0,0003	0,447
α -Tocopherol/TC zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0010 \pm 0,0007	0,0007 \pm 0,0002	0,398
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0001 \pm 0,0004	-0,0001 \pm 0,0003	0,762
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0002 \pm 0,0003	0,0001 \pm 0,0002	0,031
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0003 \pm 0,0002	0,0001 \pm 0,0004	0,023
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0006	0,0008 \pm 0,0004	0,612
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0005 \pm 0,0007	0,0008 \pm 0,0003	0,375
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0003 \pm 0,0005	0,0004 \pm 0,0002	0,679
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0006	0,0006 \pm 0,0003	0,464

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion pH-Wert 4,5)

Tabelle A 30: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5 getrocknet	pH-Wert 4,5 getrocknet	p*
α -Tocopherol zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,7 \pm 3,0	1,7 \pm 2,9	0,524
α -Tocopherol zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	1,4 \pm 3,0	3,5 \pm 3,5	0,215
α -Tocopherol zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	3,6 \pm 3,8	1,6 \pm 2,3	0,225
α -Tocopherol zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	4,0 \pm 4,2	2,4 \pm 3,1	0,401
α -Tocopherol zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	2,6 \pm 3,7	0,4 \pm 1,4	0,143
α -Tocopherol zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	4,2 \pm 2,1	0,4 \pm 1,9	0,002
α -Tocopherol zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	3,4 \pm 3,2	1,1 \pm 3,1	0,168
α -Tocopherol/TC zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0002 \pm 0,0006	0,0004 \pm 0,0005	0,467
α -Tocopherol/TC zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0002 \pm 0,0006	0,0006 \pm 0,0005	0,207
α -Tocopherol/TC zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0006	0,0004 \pm 0,0003	0,176
α -Tocopherol/TC zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0009 \pm 0,0006	0,0005 \pm 0,0005	0,142
α -Tocopherol/TC zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0005 \pm 0,0005	0,0001 \pm 0,0004	0,082
α -Tocopherol/TC zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0003	0,0001 \pm 0,0005	0,005
α -Tocopherol/TC zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0004	0,0002 \pm 0,0005	0,061
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0004 \pm 0,0004	-0,0003 \pm 0,0004	0,860
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0003 \pm 0,0005	-0,0001 \pm 0,0003	0,303
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0002 \pm 0,0004	-0,0004 \pm 0,0003	0,272
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0006	0,0003 \pm 0,0004	0,526
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0004	-0,0001 \pm 0,0004	0,102
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0002 \pm 0,0002	-0,0005 \pm 0,0004	0,003
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0004	0,0001 \pm 0,0004	0,074

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv getrocknet Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5)

Tabelle A 31: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5	pH-Wert 6,5 getrocknet	p*
α -Tocopherol zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	1,2 \pm 1,9	0,7 \pm 3,0	0,711
α -Tocopherol zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	1,5 \pm 2,8	1,4 \pm 3,0	0,984
α -Tocopherol zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	2,1 \pm 2,2	3,6 \pm 3,8	0,341
α -Tocopherol zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	4,2 \pm 2,9	4,0 \pm 4,2	0,912
α -Tocopherol zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	2,8 \pm 3,4	2,6 \pm 3,7	0,910
α -Tocopherol zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	4,0 \pm 1,9	4,2 \pm 2,1	0,841
α -Tocopherol zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	4,8 \pm 3,5	3,4 \pm 3,2	0,413
α -Tocopherol/TC zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0003	0,0002 \pm 0,0006	0,480
α -Tocopherol/TC zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0001 \pm 0,0004	0,0002 \pm 0,0006	0,688
α -Tocopherol/TC zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0004	0,0008 \pm 0,0006	0,208
α -Tocopherol/TC zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0009 \pm 0,0006	0,0009 \pm 0,0006	0,864
α -Tocopherol/TC zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0007	0,0005 \pm 0,0005	0,786
α -Tocopherol/TC zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0006	0,0008 \pm 0,0003	0,878
α -Tocopherol/TC zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0010 \pm 0,0007	0,0006 \pm 0,0004	0,257
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0001 \pm 0,0004	-0,0004 \pm 0,0004	0,254
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0002 \pm 0,0003	-0,0003 \pm 0,0005	0,654
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0003 \pm 0,0002	-0,0002 \pm 0,0004	0,722
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0006	0,0004 \pm 0,0006	0,464
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0005 \pm 0,0007	0,0004 \pm 0,0004	0,573
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0003 \pm 0,0005	0,0002 \pm 0,0002	0,639
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0006	0,0004 \pm 0,0004	0,193

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 6,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5)

Tabelle A 32: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, Mittelwert \pm SD) des Kollektivs Emulsion pH-Wert 4,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5 der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 4,5	pH-Wert 4,5 getrocknet	p*
α -Tocopherol zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	2,4 \pm 2,1	1,7 \pm 2,9	0,579
α -Tocopherol zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	2,7 \pm 2,7	3,5 \pm 3,5	0,588
α -Tocopherol zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	2,3 \pm 1,7	1,6 \pm 2,3	0,504
α -Tocopherol zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	4,1 \pm 1,9	2,4 \pm 3,1	0,211
α -Tocopherol zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	3,9 \pm 0,9	0,4 \pm 1,4	<0,001
α -Tocopherol zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	4,5 \pm 1,2	0,4 \pm 1,9	<0,001
α -Tocopherol zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	4,0 \pm 1,9	1,1 \pm 3,1	0,038
α -Tocopherol/TC zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0006	0,0004 \pm 0,0005	0,330
α -Tocopherol/TC zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0005	0,0006 \pm 0,0005	0,771
α -Tocopherol/TC zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0005	0,0004 \pm 0,0003	0,062
α -Tocopherol/TC zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0010 \pm 0,0004	0,0005 \pm 0,0005	0,062
α -Tocopherol/TC zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0003	0,0001 \pm 0,0004	0,001
α -Tocopherol/TC zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0010 \pm 0,0003	0,0001 \pm 0,0005	0,001
α -Tocopherol/TC zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0007 \pm 0,0002	0,0002 \pm 0,0005	0,011
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3 [$\mu\text{mol/l}$]	-0,0001 \pm 0,0003	-0,0003 \pm 0,0004	0,172
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{4,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0001 \pm 0,0002	-0,0001 \pm 0,0003	0,112
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0001 \pm 0,0004	-0,0004 \pm 0,0003	0,006
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{7,5}$ [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0004	0,0003 \pm 0,0004	0,027
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9 [$\mu\text{mol/l}$]	0,0008 \pm 0,0003	-0,0001 \pm 0,0004	0,001
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0004 \pm 0,0002	-0,0005 \pm 0,0004	0,001
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24} [$\mu\text{mol/l}$]	0,0006 \pm 0,0003	0,0001 \pm 0,0004	0,005

* t-Test für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 4,5 vs. Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5)

Tabelle A 33: Biokinetische Parameter (Differenz zum Nüchternwert, mittlerer Rang) des Kollektivs Emulsion kleine Partikelgröße, normale und große Partikelgröße der Studienphase IV, n=8

Parameter	pH-Wert 6,5	pH-Wert 4,5	pH-Wert 6,5 getrocknet	pH-Wert 4,5 getrocknet	p*
α -Tocopherol zu t_3	16,3	19,6	13,8	16,3	0,669
α -Tocopherol zu $t_{4,5}$	14,3	18,4	13,7	19,6	0,491
α -Tocopherol zu t_6	16,1	16,4	20,3	13,2	0,505
α -Tocopherol zu $t_{7,5}$	17,8	18,9	16,1	13,2	0,634
α -Tocopherol zu t_9	17,5	22,0	17,1	9,4	0,057
α -Tocopherol zu t_{12}	18,9	22,3	19,3	5,6	0,002
α -Tocopherol zu t_{24}	19,5	19,4	17,6	9,6	0,109
α -Tocopherol/TC zu t_3	16,6	20,1	12,8	16,6	0,491
α -Tocopherol/TC zu $t_{4,5}$	11,8	21,3	13,4	19,6	0,120
α -Tocopherol/TC zu t_6	13,4	19,9	20,6	12,1	0,155
α -Tocopherol/TC zu $t_{7,5}$	16,1	19,6	18,0	12,3	0,435
α -Tocopherol/TC zu t_9	17,6	22,7	17,0	8,7	0,026
α -Tocopherol/TC zu t_{12}	15,4	23,3	19,9	7,4	0,005
α -Tocopherol/TC zu t_{24}	20,2	18,9	18,1	8,1	0,059
α -Tocopherol/TC+TG zu t_3	19,0	19,7	13,3	14,0	0,388
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{4,5}$	13,1	23,0	13,3	16,6	0,115
α -Tocopherol/TC+TG zu t_6	15,0	24,1	15,9	11,0	0,037
α -Tocopherol/TC+TG zu $t_{7,5}$	17,6	21,5	15,4	11,4	0,183
α -Tocopherol/TC+TG zu t_9	17,9	22,9	16,1	9,1	0,028
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{12}	18,3	23,9	17,9	5,9	0,001
α -Tocopherol/TC+TG zu t_{24}	21,0	20,4	15,8	8,8	0,032

* H-Test nach Kruskal und Wallis für unabhängige Stichproben (Kollektiv Emulsion pH-Wert 6,5, Emulsion pH-Wert 4,5, Emulsion getrocknet pH-Wert 6,5 und Emulsion getrocknet pH-Wert 4,5)

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name Inga Schneider, geb. Weninger
Geburtsdatum/-ort 16.11.1975 in Hannover
Familienstand verheiratet mit Alexander Schneider
1 Kind (geb. 19.05.2009)

Schule/Ausbildung:

Schulen 1988 – 1995 Viktoria-Luise-Gymnasium, Hameln
Ausbildung August 1995 – Februar 1998 Ausbildung zur Buchhändlerin bei der Buchhandlung Matthias in Hameln

Hochschulbildung:

Studium WiSe 2002/2003 – SoSe 2005 Ökotoxikologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
29.09.2005 Abschluss als Bachelor of Science
WiSe 2005/2006 – WiSe 2006/2007 Ökotoxikologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
30.03.2007 Abschluss als Master of Science

Berufserfahrung/Promotion:

02/1998 – 08/2002 Buchhändlerin bei der Buchhandlung Matthias in Hameln
seit 04/2007 wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Lebensmittelwissenschaft und Ökotoxikologie, Abteilung Ernährungsphysiologie und Humanernährung der Leibniz Universität Hannover
seit 03/2009 Promotionsstudentin an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Leibniz Universität Hannover

Publikationsverzeichnis

Wegner K, Graf AM, Schneider I, Detmering W, Zern, N, Ellrott T. Aktuelle Aspekte der Kartoffelforschung. Teil 1: Für Übergewicht und Diabetes relevante Aspekte. Ernährungs-Umschau. 2010;(4/10):184-189.

Beutel S, Hahn A, Schneider I, Scheper T. Länger leben – gesund bleiben. Functional Food: Eine Perspektive für mehr Gesundheit. Unimagazin Hannover Forschungsmagazin der Universität Hannover. 2007;(3/4):54-56.

Schneider I, Triebel T, Kenkies M, Hager K, Trunz B, Hahn A. Bedeutung von Vitamin B12 und Folsäure für die kognitiven Funktionen im Alter. Der Nervenarzt. 2007;Suppl 2 (78):140. DGPPN Kongress 2007, Berlin, 21.-24.11.2007, Abstractband.

Danksagung

Zum Abschluss meiner Arbeit möchte ich mich allen voran ganz besonders bei Herrn Prof. Dr. Andreas Hahn für die freundliche Überlassung des interessanten Themas, sein mir entgegen gebrachtes Vertrauen sowie für die Unterstützung und Motivation bei der Erstellung dieser Arbeit bedanken.

Frau Univ.-Prof. Dr.-Ing. Brita Watkinson danke ich herzlich für die bereitwillige und spontane Übernahme des Korreferates.

Frau Dr.-Ing. habil. Ute Bindrich vom Deutschen Institut für Lebensmitteltechnik e.V. danke ich für die allseitige Unterstützung und die Bereitschaft mich in die technologischen Arbeiten einzuführen sowie zu diesen konstruktiv beizutragen.

Bei Frau Dr. Gaby Kressel, Frau Dr. Bärbel Mang und Frau Dr. Birgit Trunz bedanke ich mich für die Mithilfe bei der Planung, der Durchführung und der Auswertung der Studien sowie für die hilfreichen Fachgespräche und die Unterstützung während der Entstehung dieser Arbeit. Hans Weninger danke ich besonders für die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts.

Viele Helferinnen und Helfer haben sich an der Vorbereitung, Durchführung und Auswertung der Studien intensiv beteiligt. Allen voran sind hier die technischen Mitarbeiterinnen Frau Heike Kohrs und Frau Gudrun Gläser zu nennen, die „vor dem Aufstehen“ und bis „nach der Tagesschau“ bereitwillig, mit viel Engagement und stets guter Laune die Blutproben aufbereitet haben. Mein Dank gilt des Weiteren den studentischen Hilfskräften und wissenschaftlichen Mitarbeitern Reikya Behrendt, Dominik Behrens, Till Breiter, Gunda Hansen, Katrin Kaiser, Miriam Kiene, Manja Koch, Matthias Konrad, Robert Peris, Stefanie Plötz, Janina Postler, Katharina Siebert, Dr. Jan-Philipp Schuchardt, Dr. Doreen Stettin, Dr. Alexander Ströhle, Laura Termeer, Dr. Thamar Triebel, Andrea Voss und Jan Winters.

Ohne die Bereitschaft zur Teilnahme und die große Motivation der Studienteilnehmer wäre die Durchführung dieser Studien nicht möglich gewesen. Ihnen sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

Allen Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Lebensmittelwissenschaft und Ökotrophologie danke ich für die Überlassung von Räumen sowie weitere im Zusammenhang mit den Studien bereitwillig in Kauf genommene Einschränkungen.

Ganz besonders danke ich meinem Mann Alexander Schneider für die uneingeschränkte Unterstützung und das Vertrauen in mich und meine Ziele sowie meiner Tochter Lotte für ihr unkompliziertes fröhliches Wesen und vor allem für die Möglichkeit, diese Arbeit zusammen mit ihr fertig zu stellen.

Erklärung zur Dissertation

gemäß §6(1) der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover für die Promotion zum Dr. rer. nat.

Hiermit erkläre ich, dass ich meine Dissertation mit dem Titel

„Einfluss technologischer Verfahren auf die Bioverfügbarkeit von Vitamin E aus angereicherten Lebensmitteln“

selbstständig verfasst und die benutzten Hilfsmittel und Quellen sowie gegebenenfalls die zu Hilfeleistungen herangezogenen Institutionen vollständig angegeben habe.

Die Dissertation wurde nicht schon als Masterarbeit, Diplomarbeit oder andere Prüfungsarbeit verwendet.

Inga Schneider