

Konjugierte Linolsäureisomere (CLA) in biologischen Matrices

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Chemie
der Universität Hamburg



Aus dem Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie
-Abteilung Lebensmittelchemie-
der Universität Hamburg



vorgelegt von

Rainer Rickert
aus Bad Segeberg

Hamburg 2002

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1997 bis April 2001 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. H. Steinhart am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Abteilung Lebensmittelchemie, an der Universität Hamburg angefertigt.

- 1. Gutachter: Prof. Dr. Dr. H. Steinhart
- 2. Gutachter: Prof. Dr. B. Bisping

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 29. April 2002

„Es ist schön, den Augen
derer zu begegnen,
denen man soeben etwas
geschenkt hat.“

Jean de la Bruyère

FÜR MEINE LIEBEN ELTERN

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich für die vielseitige Unterstützung, die mir während meiner Promotionszeit zuteil wurde, bedanken. Insbesondere bei:

Herrn Prof. Dr. Dr. H. Steinhart für die Überlassung der interessanten Themenstellung, für die Betreuung der Arbeit sowie Förderungen und internationaler Kontakte, die in ihrer Vielfalt zur Bearbeitung des Themas beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. B. Bisping für die bereitwillige Übernahme des Koreferates.

Dem IQS (Institut für Qualitätssicherung GmbH), besonders Frau Dr. G. Kell und Herrn Dr. M. Hartwig sowie allen lieb gewonnenen Mitarbeitern, die es mir ermöglichten, neben meiner Promotion dort zu arbeiten.

Frau Anja Quast, Frau Alexandra Schnell, Frau Wiebke Schabbel und Herrn Fabrice Goisset für ihr Engagement und Zusammenarbeit an der CLA-Thematik sowie Frau Kristina Hoffmann und Herrn Andreas Heinze für die großartige Unterstützung bei der CLA-Analytik sowie allen Kollegen der Abteilung Lebensmittelchemie für ihre gute Zusammenarbeit.

Frau Sandra Otte und Frau Christina Caliebe sowie dem Sensorikpanel für ihr Interesse und wertvolles Engagement an den Untersuchungen zum Spickspeck.

Herrn Dr. S. Franke, Institut für organische Chemie, für die FTIR-Messungen.

Herrn Prof. Dr. F. Schwarz, TU München, für die Bereitstellung der Fleischproben.

Herrn Prof. Dr. V. Lehmann, Abt. für Gynäkologie AK Altona, Hamburg, sowie Herrn Dr. H. Demmelmair und Herrn Prof. Dr. B. Koletzko, Kinderpoliklinik der Universität München, für die Bereitstellung der Plasma- und der Gewebeproben.

Frau Dr. J. Rader, Herrn Dr. Y. Ku, Herrn Dr. M.M. Mossoba, Herrn Dr. M.P. Yurawecz und Herrn Dr. J.A.G. Roach, Food and Drug Administration, Washington, USA, für die Möglichkeit eines längerfristigen Aufenthaltes bei der FDA mit gleichzeitiger Durchführung von Untersuchungen sowie ihre außerordentliche Freundlichkeit und Hilfsbereitschaft.

Herrn Dr. N. Sehat, Merck, Darmstadt, Dr. J. Fritsche, Unilever, Vlaardingen, Niederlande sowie Frau S. Gnädig, INRA, Dijon, Frankreich, für ihre Diskussionen und Anregungen.

Meinen Geschwistern und ihren Familien und besonders Bettina und Kirstin für ihre großartige Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit.

Abkürzungsverzeichnis

ACN	Acetonitril
Ag ⁺ -HPLC	Silberionen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
AMP	2-Amino-2-Methylpropanol
B 180	Bullen, 180 Tage α -Tocopherolacetatzulage
B 270	Bullen, 270 Tage α -Tocopherolacetatzulage
BF ₃	Bortrifluorid
BHT	tert-Butylhydroxytoluol
B KG	Kontrollgruppe Bullen, ohne α -Tocopherolacetatzulage
c	cis
CE	Cholesterolester
c,t	cis, trans
CLA	conjugated linoleic acid, Konjugierte Linolsäureisomere
COX	Cyclooxygenase
DAD	Dioden Array Detektor
DCM	Dichlormethan
DD	direct deposition
DMBA	7,12-Dimethylbenz(a)anthracen
DMOX	4,4-Dimethyloxazolin
DNA	Desoxyribunucleinsäure
EIA	enzyme-immuno assay
ESI	elektrospray ionization
eV	Elektronenvolt
FG	Fettgewebe
FIA	flow injection analysis
FID	Flammenionisationsdetektor
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
FSME	Fettsäuremethylester
FTIR	Fourier Transformations Infrarotspektrometrie
GC	Gaschromatograph
HDL	high density lipoprotein
HPLC	high performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
ID	Innendurchmesser
IgA,E,G	Immunglobulin A,E,G
IS	Interner Standard
K _f	Korrekturfaktor
LDL	low density lipoprotein
LT	Leukotrien
LTB ₄	Leukotrien B ₄
LTC ₄	Leukotrien C ₄
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
M*	Molekülmasse
ME	Methylester
MeOH	Methanol
MI	matrix isolation
min.	Minuten
mL	Milliliter
M.l.d.	<i>Musculus longissimus dorsi</i>

Abkürzungsverzeichnis

MNU	Methylnitrosoharnstoff
mRNA	messenger Ribonucleinsäure
MS	Massenspektrometer
mu	Masseneinheiten
MUFA	monounsaturated fatty acid, einfach ungesättigte Fettsäuren
mV	Millivolt
MW	Mittelwert
m/z	Masse/Ladung, Fragmention
n	Stichprobenumfang
NCI	Negativ chemische Ionisation
n.b.	nicht bestimmt
n.n.	nicht nachweisbar
NH ₂ -SPE	Aminopropyl Festphasenextraktion
NWG	Nachweisgrenze
P	Proband
p	Wahrscheinlichkeit
PG	Prostaglandin
PGE ₂ , D ₂	Prostaglandin E ₂ , D ₂
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
PL	Phospholipide
PPAR	Peroxisom-proliferationsaktivierter Rezeptor
PUFA	polyunsaturated fatty acid, mehrfach ungesättigte Fettsäuren
RIA	radio immuno assay
RP-HPLC	reversed-phase high performance liquid chromatography
Rt	Retentionszeit
s.	siehe
SCD	Stearoyl-CoA-Desaturase
SFA	saturated fatty acid, gesättigte Fettsäuren
SGO	Silagegefütterte Ochsen
SIM	Selected Ion Monitoring
SPE	solid phase extraction, Festphasenextraktion
Stabw	Standardabweichung
t	trans
TEB	terminal end buds
TFA	trans fatty acids, Trans-Fettsäuren
TFAc	Trifluoressigsäure
TG	Triacylglycerine
TLC	Thin layer chromatography, Dünnschichtchromatographie
TMS	Trimethylsilyl
TNF α	Tumor necrosis factor - alpha
TNM	Tumor/node/metastasis
TPA	12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat
TSP	Thermospray ionisation
TX	Thromboxan
TXA ₂ , B ₂	Thromboxan A ₂ , B ₂
UV	Ultraviolett
WGO	Weidegefütterte Ochsen
WHO	World Health Organisation

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	1
1.1 BILDUNG UND HERKUNFT	2
1.2 PHYSIOLOGISCHE BEDEUTUNG	4
1.2.1 Tiermodelle und Zellkulturen	4
1.2.2 Humanstudien	9
1.2.3 Stoffwechselweg.....	10
1.3 GEHALTE IN LEBENSMITTELN	15
1.4 PROBLEMSTELLUNG.....	17
2 REFERENZSUBSTANZEN UND UNTERSUCHUNGSMATERIAL ...	19
2.1 REFERENZSUBSTANZEN FETTSÄUREN	19
2.2 REFERENZSUBSTANZEN EICOSANOIDE	19
2.3 LEBENSMITTEL	20
2.4 MAMMA- UND OVARGEWEBEPROBEN	21
2.5 HUMANPLASMA.....	22
3 ANALYTIK	23
3.1 FETTSÄUREANALYTIK.....	23
3.1.1 Lipidextraktion	24
3.1.2 Lipidklassenfraktionierung.....	25
3.1.3 Methylierungsreaktionen	26
3.1.4 Derivatisierung zu 4,4-Dimethyloxazolinen (DMOX)	27
3.1.5 Partielle Hydrazinreduktion.....	28
3.1.6 Chromatographische Analysemethoden	29
3.2 EICOSANOIDANALYTIK.....	30
3.2.1 Eicosanoidextraktion	31
3.2.2 Aufreinigung des Eicosanoidextraktes	32
3.2.3 Analysemethoden.....	33
3.3 STATISTISCHE METHODEN.....	36
4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	37
4.1 IDENTIFIZIERUNG VON CLA-ISOMEREN	37
4.1.1 Methodenoptimierung mittels Ag ⁺ -HPLC.....	37
4.1.2 Fraktionierung.....	40
4.1.3 GC-MS.....	41
4.1.4 GC-FTIR.....	43
4.1.5 Partielle Hydrazinreduktion.....	45
4.1.6 Diskussion	47

4.2 BESTIMMUNG VON CLA-GEHALTEN UND -ISOMERENMUSTERN IN LEBENSMITTELN ..	50
4.2.1 <i>Milch, Milcherzeugnisse und Käse</i>	50
4.2.2 <i>Fleischproben</i>	52
4.2.3 <i>Diskussion</i>	54
4.3 UNTERSUCHUNG VON MAMMA- UND OVARGEWEBE	58
4.3.1 <i>CLA-Gehalt und CLA-Isomerenmuster</i>	58
4.3.2 <i>Eicosanoide</i>	62
4.3.3 <i>Diskussion</i>	63
4.4 EINFLUSS EINER TFA-REICHEN ERNÄHRUNG AUF CLA	65
4.5 FAZIT UND AUSBLICK	80
5 ZUSAMMENFASSUNG	81
5 SUMMARY	83
6 ANHANG	85
6.1 REFERENZSUBSTANZEN FETTSÄUREN	85
6.2 REFERENZSUBSTANZEN EICOSANOIDE	87
6.3 LEBENSMITTELPROBEN	88
6.4 GEWEBEPROBEN	89
6.5 PLASMAPROBEN	90
6.6 LIPIDEXTRAKTION	92
6.7 EICOSANOID-EXTRAKTION AUS FETT- UND TUMORGEWEBE (MAMMA UND OVAR)....	93
6.8 AUFREINIGUNG DES EICOSANOIDEXTRAKTES	94
6.9 LIPIDFRAKTIONIERUNG AUS BLUTPLASMA	94
6.10 DERIVATISIERUNGEN	94
6.10.1 <i>FSME</i>	94
6.10.2 <i>DMOX-Derivate</i>	95
6.11 PARTIELLE HYDRAZINREDUKTION DER CLA-ISOMERE	96
6.12 GC-PARAMETER	96
6.13 HPLC-PARAMETER	97
6.14 KALIBRIERUNG	99
6.14.1 <i>CLA-Isomere</i>	99
6.14.2 <i>Eicosanoide</i>	99
6.15 GC-ERGEBNISSE	101
6.16 HPLC-ERGEBNISSE	112
6.17 CHROMATOGRAMME	125
6.18 MASSENSPEKTREN	128
6.19 CHEMIKALIEN UND GERÄTE	131
7 LITERATUR	133
8 GLOSSAR	149

1 Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen als Folge von arteriosklerotischen Veränderungen in den Blutgefäßen sowie Krebs gehören zu den häufigsten Krankheiten in den westlichen Industrienationen (BRESLOW, 1997). Es ist schon lange bekannt, dass Risikofaktoren wie Fettstoffwechselstörungen, Diabetes mellitus und frühzeitige Arteriosklerose durch die Ernährung beeinflusst werden. Auch bei Krebs scheint eine ausgewogene Ernährung die Prävention und Therapie zu unterstützen (KROKE und BOEING, 1997). Es besteht daher ein zunehmendes Interesse an Nahrungsbestandteilen, die protektive physiologische Wirkungen besitzen. Solche Nahrungsmittel werden heute als Functional Food bezeichnet. Die Rolle der Nahrungsfette wird diesbezüglich kontrovers diskutiert. Unterschiedliche Nahrungsfette wie z.B. Docosahexaensäure oder trans-Fettsäuren (TFA) zeigten in verschiedenen Studien sowohl schützende als auch schädigende Wirkungen (FRITSCHKE und STEINHART, 1998a). Seit HA et al. (1987) erstmals eine anticancerogene Wirkung der konjugierten Linolsäure (engl.: conjugated linoleic acid, CLA) nachweisen konnten, besteht ein großes Interesse an CLA.

CLA bezeichnet ein komplexes Gemisch von positionellen und geometrischen Isomeren der Linolsäure, deren Doppelbindungen konjugiert und nicht wie bei der Linolsäure durch eine Methylen-Gruppe getrennt angeordnet sind. Das Hauptisomer der natürlich vorkommenden CLA ist die cis9, trans11-Octadecadiensäure (c9,t11-C18:2) (IP et al., 1994), für die sich heute weitestgehend die Bezeichnung „ruminic acid“ durchgesetzt hat (KRAMER et al., 1998). Andere CLA-Isomere stellen nur Minor-komponenten dar (IP et al., 1994). Abb. 1.1 zeigt einige wichtige CLA-Isomere.

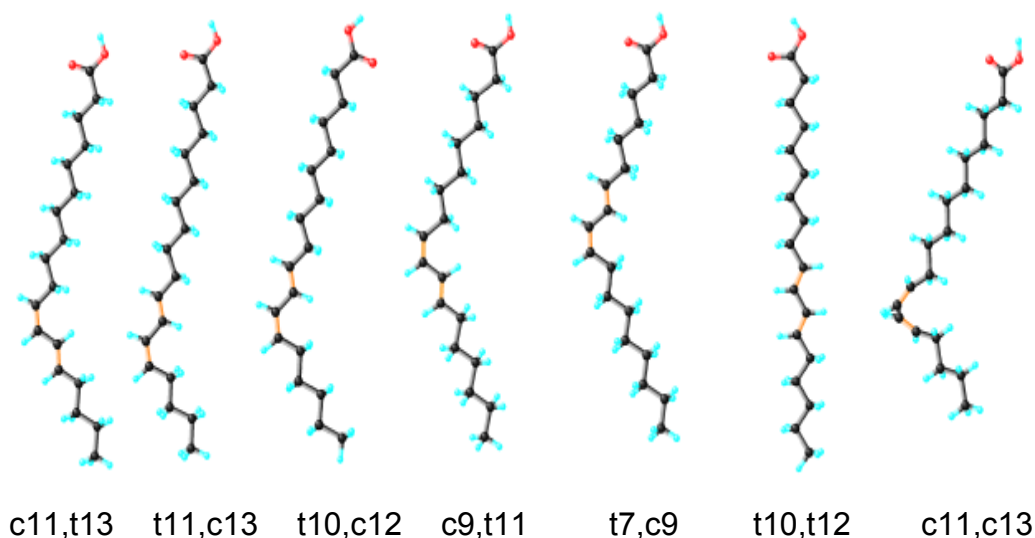


Abb. 1.1 Strukturen einiger wichtiger CLA-Isomere

1.1 Bildung und Herkunft

Zusammen mit TFA kommen CLA natürlicherweise in Milchfett und Fleisch von Wiederkäuern vor. Das Hauptisomer aus der Gruppe der CLA $c9,t11$ -C18:2 stellt ein Zwischenprodukt der biologischen Hydrierung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren im Pansen von Wiederkäuern dar. Der Bildungsmechanismus von CLA innerhalb einer unvollständigen Biohydrierung gilt als allgemein anerkannt. Damit allein kann jedoch nicht der hohe Gehalt an CLA bzw. $c9,t11$ -C18:2 in Wiederkäuer-Produkten sowie ein ermittelter, wenn auch geringerer Gehalt von CLA in Produkten von Nicht-Wiederkäuern erklärt werden. Die Bildung von $c9,t11$ -C18:2 kann darüber hinaus mittels Desaturierung aus $trans11$ C18:1 (trans-Vaccensäure) erfolgen (s. Abb. 1.2).

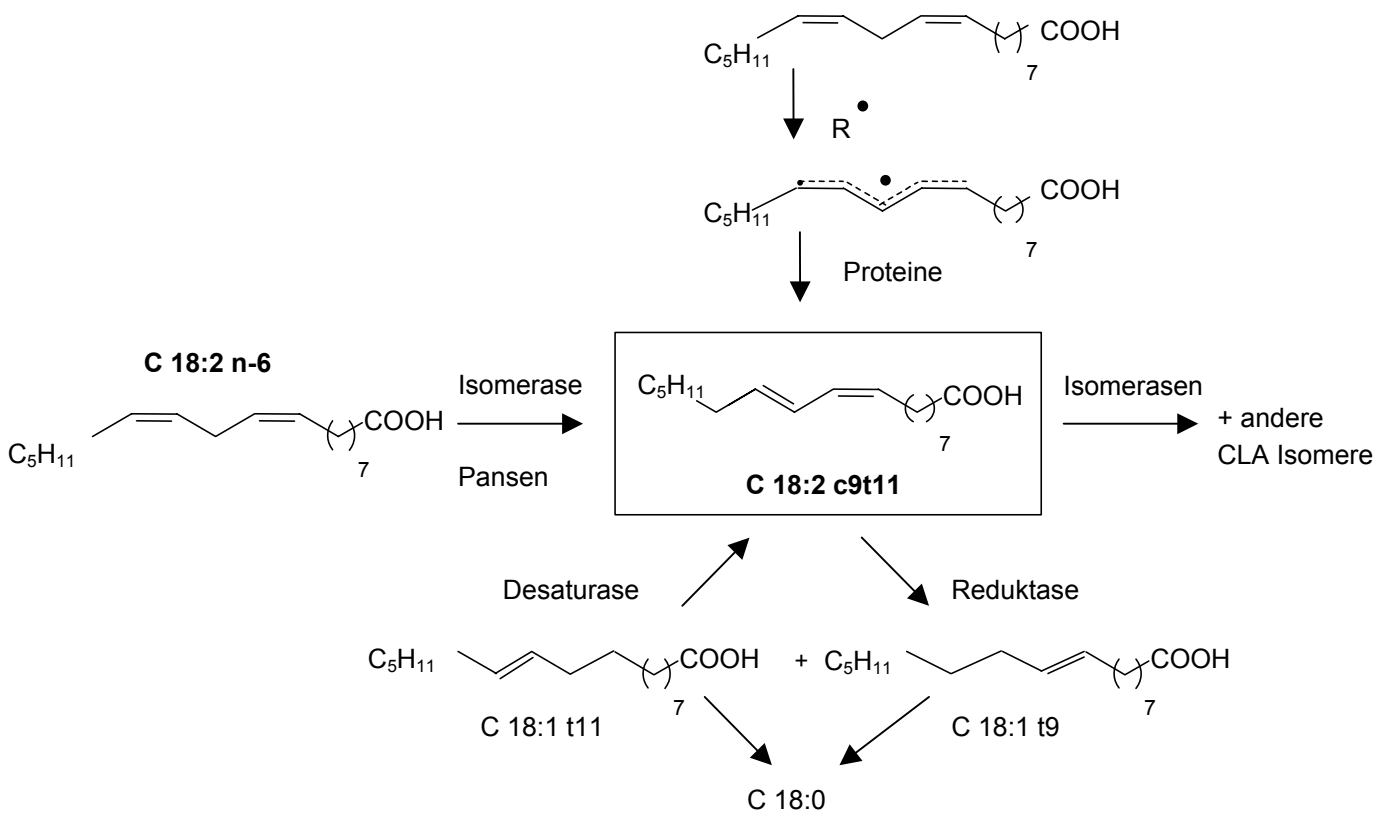


Abb. 1.2 Bildungswege für CLA

Das anaerobe Pansenbakterium *Butyrivibrio fibrisolvens* isomerisiert mittels eines spezifischen Enzyms (Linoleat-Isomerase; EC 5.2.1.5) Linolsäure zu CLA (KEPLER et al., 1966). Das Enzym ist substratspezifisch für ein $cis9, cis12$ - Doppelbindungssystem und eine freie Carboxylgruppe (KEPLER et al., 1970). Die Bildung anderer CLA-Isomere beruht auf einer Reihe verschiedener Isomerasen (GRINARI und BAUMAN, 1999).

Ein über einen weiten Bereich der Nahrung konstantes Verhältnis von trans-Vaccensäure, ebenfalls ein Zwischenprodukt bei der Biohydrierung, zu CLA erlaubte die Hypothese der Δ^9 -Desaturierung der trans-Vaccensäure zum c9,t11-C18:2 Isomer in menschlichem und tierischem Gewebe (GRIINARI et al., 1997). Diese Vermutung wird durch Untersuchungen von WARD et al. (1998) als auch MARTIN et al. (1999) gestützt, die in der Brustdrüse und im Fettgewebe von Wiederkäuern eine deutliche Aktivität der Δ^9 -Desaturase (= Stearoyl-CoA Desaturase; EC 1.14.99.5) feststellen konnten. Vor kurzem gelang GRIINARI et al. (2000) der direkte Nachweis der Bildung von c9,t11-C18:2 aus der trans-Vaccensäure durch Δ^9 -Desaturase in den Brustdrüsen von laktierenden Kühen. Unterschiede in der Aktivität der Δ^9 -Desaturase sind spezies- und gewebebedingt. Die höchste Aktivität in wachsenden Wiederkäuern mit trans-Vaccensäure als Substrat zeigte demnach Fettgewebe (GRIINARI et al., 1999).

POLLARD et al. (1980) berichteten von einer Desaturierung von trans7 und trans11 ungesättigten Monoenfettsäuren in Lebermikrosomen von Ratten. SALMINEN et al. (1998) konnten in einer 5-Wochen-Studie nach Verabreichung einer Diät, die reich an Milchprodukten, Stearinsäure oder gehärteten Pflanzenfetten (ca. 3 g trans-Vaccensäure/Tag) war, im Serum einen erhöhten CLA-Gehalt in der Gruppe der mit Pflanzenfett ernährten Probanden feststellen. Auch in Mäusen und Schweinen konnten erhöhte CLA-Gehalte nach Fütterung von TFA ermittelt werden. GLÄSER et al. (2000) fütterten unterschiedliche Diäten mit unterschiedlicher Fettsäurezusammensetzung (Kontrollgruppe mit einer weizen- und sojabohnenhaltigen Basisration; Studie: jeweils 5% der Basisration aus der Kontrollgruppe ersetzt durch eine Olein- bzw. Stearinfraktion aus Schweineschmalz sowie teilweise gehärteten Fetten) an Schweine und stellten einen erhöhten CLA-Gehalt in der Gruppe fest, die das teilgehärtete Fett erhalten hatte. In Studien mit Mäusen wurde reine trans-Vaccensäure verfüttert. Auch hier wurde die trans-Fettsäure über eine Desaturierung in das entsprechende CLA-Isomer umgewandelt (SANTORA et al., 2000).

Daneben ist die Bildung von CLA ebenfalls während des Autoxidationsprozesses von polyungesättigten Fettsäuren bei Anwesenheit von Proteinen zur Reptonierung möglich. Die Menge der bei der katalytischen Hydrierung von Ölen und Fetten gebildeten CLA-Isomere ist im Gegensatz zu den gebildeten TFA jedoch sehr gering (FRITSCHKE und STEINHART, 1998a).

1.2 Physiologische Bedeutung

Im Gegensatz zu den TFA, denen bisher eher negative Einflüsse in bezug auf die Arteriosklerose nachgesagt wurden, konnten bei CLA eine Vielzahl positiver Effekte festgestellt werden. Dies ist insofern bedeutsam, da CLA, ebenso wie TFA, eine oder mehrere Doppelbindungen in trans-Konfiguration besitzen können, diese jedoch in Konjugation zur nächsten Doppelbindung stehen (s. Abb. 1.1).

1.2.1 TIERMODELLE UND ZELLKULTUREN

Als Ende letzten Jahrzehnts das anticancerogene Potential von CLA erkannt wurde, stieg die Zahl der Publikationen auf diesem Forschungsgebiet stark an. So lässt sich diese Entwicklung u.a. durch die Vielzahl positiver Wirkungen erklären, die in den letzten Jahren erforscht wurden. 1993 wurden positive Effekte auf das Immunsystem beschrieben, während ein Jahr später der antiatherogene Effekt zum ersten Mal gezeigt werden konnte (COOK et al., 1993; LEE et al., 1994). Zwei weitere Jahre danach wurden erstmals Einflüsse auf den Körperfettgehalt sowie die Proteinmasse festgestellt (PARIZA et al., 1996). Erneut ein Jahr später konnte eine steigende Knochenmasse beobachtet werden (SEIFERT und WATKINS, 1997). 1998 konnte gezeigt werden, dass CLA ebenfalls eine Normalisierung der Glukosetoleranz bei Ratten bewirkte (HOUSEKNECHT et al., 1998). Schließlich erwiesen sich CLA als Antagonisten einer Plättchenaggregation, weshalb auf einen möglichen antithrombotischen Effekt geschlossen wurde (TRUITT et al., 1999). Zusammenfassend sind die gezeigten physiologischen Effekte in Abb. 1.3 dargestellt. Die in Abb. 1.3 dargestellten Eigenschaften werden im Folgenden genauer beschrieben.

anticancerogen:

CLA beeinflusst

- Eicosanoid-Synthese und -stoffwechsel
- Membran-Fluidität

anabol:

- Fettgewebeanteil sinkt
- Muskelgewebeanteil steigt
- Knochenmasse steigt

antidiabetogen

antithrombotisch

positiv immunomodulierend

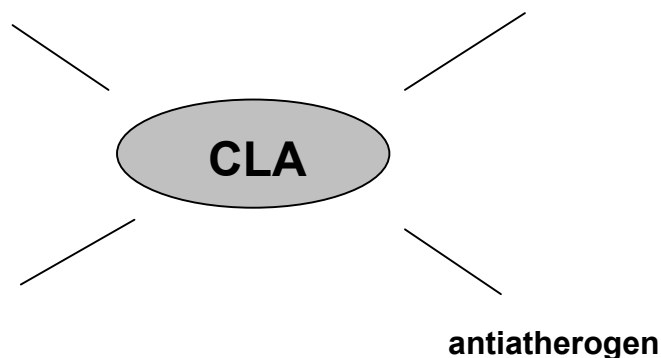


Abb. 1.3 Physiologische Wirkungen von CLA

Anticancerogenität

Eine große Zahl der bisher durchgeführten Untersuchungen beschäftigte sich mit Tiermodellen und Zellkulturversuchen zur Cancerogenität. Dabei wurden eine Reihe verschiedener Krebsmodelle untersucht. Nachdem bei Mäusen mit 7,12-Dimethylbenz(a)anthracen (DMBA) Hautkrebs hervorgerufen und mit 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat (TPA) promoviert wurde, zeigte die Haut der mit 20 mg des CLA-Isomerengemisches behandelten Mäuse eine signifikante Reduktion der Papilloma und Tumorbildung gegenüber der Kontrollgruppe (HA et al., 1987). Später wurde die Verhütung von Brustkrebs durch CLA (bis 1,5 % Isomerengemisch in der Gesamtnahrung) an Ratten beobachtet (IP et al., 1991). Der Effekt war bis 1 % dosisabhängig, wobei eine weitere Erhöhung auf 1,5 % keinen weiteren Schutz bot. IP et al. (1995) konnten ebenfalls zeigen, dass nach Fütterung von Ratten mit CLA, denen mittels Methyl-nitrosoharnstoff (MNU) Brustkrebs induziert wurde, eine Unterdrückung der Tumorbildung auftrat. Beschränkt war dies jedoch auf den Wachstumszeitraum der Tiere. Deutlich weniger effektiv war CLA bei Fütterung nach der Initialphase. Eine weitere Studie zeigte, dass CLA Brustkrebsbildung unabhängig von der Art oder des Gehaltes des verwendeten Fettes verhinderten (IP et al., 1996). In Butterfett angereicherte CLA (hier vorwiegend das cis9, trans11 Isomer) zeigten eine Reduzierung der sogenannten „terminal end buds“ ähnlich der ungebundener CLA (IP et al., 1999). Eine Langzeitinkubation von CLA auf MCF-7 Mammakarzinomzellen induzierte eine Hemmung des Zellwachstums (SHULTZ et al., 1992). VISONNEAU et al. (1997) konnten mit einem 1 %igen CLA-Gemisch im Futter eine Reduzierung der Metastasierung in Lunge und Knochenmark an zuvor mit MDA-MB468 Brustadenokarzinom inokulierten SCID-Mäusen feststellen.

Untersuchungen zum Mechanismus der Anticancerogenität der CLA ergaben, dass CLA nicht die Gehalte der Gesamtlipide, Neutral- und Phospholipide im Brustgewebe beeinflussen, sondern die Epitheldichte und DNA Synthese in den „terminal end buds“ reduzieren (BANNI et al., 1999a). Eine mögliche Erklärung zur Verhinderung des Krebszellenwachstums durch CLA ist die Beeinflussung der Eicosanoidsynthese bzw. des Eicosanoidstoffwechsels. Durch kompetitive Nutzung von CLA und Linolsäure der für die Eicosanoid-Synthese notwendigen Enzyme (Cyclooxygenase; COX) können andere Prostaglandine (PG) entstehen als das bei der Cancerogenese bekannte PGE₂ (BELURY, 1995; SUGANO et al. 1997) (s. auch 1.2.3). Die entstehenden konjugierten 20:3 und 20:4 Isomere konnten bereits nachgewiesen werden (SÉBÉDIO et al., 1997; JUANÉDA und SÉBÉDIO, 1999). Zudem wurde ein PGE₂-Abfall nach Fütterung von CLA beobachtet (TUREK et al., 1998; SUGANO et al., 1998; LI und WATKINS, 1998). Die Beeinflussung der Lipoxygenase, die zur Bildung der LT erforderlich ist, dient ebenfalls als mögliche Erklärung (BANNI et al., 1999a; KAVANAUGH et al., 1999).

Ergebnisse an FaO-Zelllinien belegen, dass der Peroxisom-proliferationsaktivierte Rezeptor (PPAR), der in die Genexpression von Enzymen des Fettsäurestoffwechsels eingreift, durch das Hauptisomer der CLA (rumenic acid) angeregt wird (MOYA-CAMARENA et al., 1999). BANNI et al. (1999b) konnten an Sprague-Dawley Ratten zeigen, dass dieser Effekt dazu führt, dass das Retinol-Bindungsprotein verstärkt Retinol in der Leber einlagert. Damit hat möglicherweise das Carotinoid ebenfalls einen Einfluss auf den Mechanismus der Anticancerogenität von CLA. Der Mechanismus von PPAR ist indes noch unklar und der Effekt scheint darüber hinaus spe-zies-abhängig zu sein (MOYA-CAMARENA et al., 1999; MARTIN et al., 2000).

Denkbar ist ebenso, dass durch den Einbau von CLA in die Phospholipidmembranen, anstelle der Arachidonsäure, eine veränderte Membranfluidität, verbunden mit einer Änderung des Signalübertragungsweges, resultiert. (BELURY, 1995; BELURY und KEMPA-STECZKO, 1997). Die Phospholipide (PL) sind zur Aktivierung der Proteinkinase C notwendig, die wiederum bei der Signalübertragung eine bekannte Gruppe von Enzymen darstellt. Es ist ebenfalls bekannt, dass verschiedene mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA) unterschiedlich starke Wirkungen der Proteinkinase C hervorrufen (MERILL und SCHRÖDER, 1993; BELURY et al., 1993).

Antiatherogenität

Da das Hauptisomer der CLA, cis9, trans11, eine Doppelbindung in trans-Stellung aufweist und TFA den LDL-Cholesterinspiegel sowie den Triacylglycerin- und Lipoproteingehalt im Serum erhöhen (KATAN und ZOCK, 1995), wurde die Wirkung von CLA auf die Arteriosklerose untersucht. Die Antiatherogenität wurde anhand einer Verminderung der „fatty-streak“-Bildung in den Aorten und signifikant reduzierten Gehalten von LDL- und des LDL/HDL- Quotienten in der mit CLA-gefütterten Gruppe von Kaninchen (0,5%) und Hamstern (bis 1,1%) beobachtet (LEE et al, 1994; NICOLOSI et al, 1997). Ebenfalls im Kaninchen-Modell konnten KRITSCHEVSKY et al. (2000) eine 30%ige Reduzierung von arteriosklerotischen Läsionen zeigen.

Es wird vermutet, dass die über die Nahrung aufgenommenen CLA die Höhe der postprandialen Chylomikronen-Triacylglycerine (TG) beeinflussen, die direkt mit dem Arterioskleroserisiko korrelieren (CASTELLI, 1986). Die Chylomikronen und deren Lipolyseprodukte beeinflussen durch Adhäsionsmolekülexpression das Gefäßendothel (MOERS et al., 1997; MOERS und SCHREZENMEIR, 1997). Der direkte Beweis hierfür fehlt, jedoch wurde dieser Effekt bereits von mehrfach ungesättigten Fettsäuren hervorgerufen (BERGERON und HAVEL, 1995).

Widersprüchlich zu den genannten Untersuchungen sind jedoch die Ergebnisse von MUNDAY et al. (1999). Sie konnten zeigen, dass nach Fütterung von unterschiedlichen Mengen eines CLA-Isomerengemisches (0, 2,5 und 5 % im Futter) an C57BL/6 Mäusen das Verhältnis von HDL-Cholesterin zu Gesamt-Cholesterin im Serum ansteigt sowie der Gesamttriacylglyceringehalt erniedrigt wird. Die Bildung der „fatty streaks“ nahm zu. Im Gegensatz zu den bisher untersuchten Tieren zeigen Mäuse keine Neigung zu Arteriosklerose, während dies bei Kaninchen oder Hamstern durchaus möglich ist. KRITCHEVSKY (2000) nennt darüber hinaus den nicht ausreichend hohen Gehalt an CLA im Futter als mögliche Ursache für den negativen Effekt bei Mäusen. Erst ab einem Gehalt von mindestens 10 g CLA/kg Körpergewicht vermutet er eine Reduzierung der „fatty streaks“.

Sowohl in Studien mit positiven als auch mit negativen Ergebnissen werden keine Angaben über die Wirkung einzelner Isomere gemacht, da bei diesen Untersuchungen nicht näher charakterisierte, häufig selbst durch alkalische Isomerisierung hergestellte, CLA-Isomerengemische eingesetzt wurden. Zur Erklärung der dokumentierten Unterschiede muss eine Überprüfung mit Einzelisomeren angestrebt werden, auch mit dem Ziel, das bzw. die physiologisch aktive/n Isomer/e zu ermitteln.

Anabole Effekte

Verschiedene Studien an Mäusen, Ratten und Schweinen zeigten einen um teilweise bis zu 60 % reduzierten Körperfettanteil bei gleichzeitiger Erhöhung der fettfreien Körpermasse (lean body mass) um 14 % bei solchen Tieren, die ein Futter erhielten, dem ein CLA-Isomerengemisch (0,5 bis 1,2 % im Futter) zugesetzt war (DUGAN et al., 1997; PARK et al., 1997; SISK et al., 1998; WEST et al., 1998). Ein Einfluss auf die Aufnahmemenge der Gesamtenergie konnte nicht festgestellt werden (DELANY et al., 1999). LI und WATKINS (1998) konnten darüber hinaus eine Erhöhung der Knochenmasse feststellen.

In Studien an wachsenden Mäusen wurden die Tiere mit einem Gemisch aus etwa gleichen Teilen c9,t11-C18:2 und t10,c12-C18:2 gefüttert. Die Tiere zeigten ebenfalls einen reduzierten Körperfettansatz bei einem erhöhten Proteinmasseansatz (PARK et al., 1999a). In Versuchen mit 3T3-L1 Zellkulturen konnte dann gezeigt werden, dass t10,c12-C18:2 eine Reduzierung der Lipoproteinlipaseaktivität, einen geringeren Gehalt an intrazellulären TG sowie an Glycerin selbst bewirkte. Daraus schlossen die Autoren, dass dieses Isomer für den anabolen Effekt verantwortlich ist (PARK et al., 1999a). GAVINO et al. (2000) konnten in Fütterungsversuchen an Hamstern ausschließen, dass das Hauptisomer c9,t11-C18:2 einen Effekt auf die Plasmalipide und die Gewichtszunahme hat. Neuere Studie ergaben darüber hinaus, dass CLA aufgrund einer Reduzierung der Fettzellgröße zur Fettabnahme führten und nicht durch eine Reduzierung der Anzahl der Fettzellen (AZAIN et al., 2000).

Die Wirkung im Organismus wird auf eine verringerte Fetteinlagerung verbunden sowohl mit einer erhöhten β -Oxidation, mittels Steigerung der Aktivität des limitierenden Enzyms Carnitin-Palmitoyltransferase (PARK et al., 1997; MARTIN et al., 2000), als auch mit einer Erhöhung der Masse der Skelettmuskulatur zurückgeführt. Letzteres beruht nicht zuletzt auf der Reduzierung des immun-induzierten Abbaus von Proteinen (PARK et al., 1999b). In 3T3-L1 Zellen konnte durch CLA eine Zelldifferenzierung inhibiert und die mRNA Expression einiger Proteine innerhalb der Differenzierung reduziert werden (BRODIE et al., 1999). Eine Erklärung ist trotzdem schwierig, da einerseits c9,t11-C18:2 (nicht t10,c12-C18:2) PPAR aktivieren (MOYACAMARENA et al., 1999), andererseits t10,c12-C18:2 (nicht c9,t11-C18:2) die Expression von Stearoyl-CoA-Desaturase (SCD) mRNA in der Leber herabsetzt (LEE et al., 1998), obwohl PPAR die Genexpression von SCD in der Leber aktiviert.

Immunmodulierend

Bereits 1993 konnten Cook et al. durch eine 0,5%ige CLA-Zulage im Futter bei Hühnern Kachexie nach bakteriell induzierter Wachstumshemmung (mittels Lipopolysaccharide) verhindern. Eine Steigerung der Immunfunktion konnte anhand einer erhöhten Proliferation von Lymphozyten in Schweineblut (CHEW et al., 1997) sowie in Milzzellkulturen, die aus Tieren gewonnen wurden, deren Futter eine CLA-Mischung enthielt, festgestellt werden (HAYEK et al., 1999). Autoimmune Mäuse (NZB/W F1), die genetisch bedingt an starkem Gewichtsverlust leiden, wurden mit CLA-haltigem Futter ernährt und zeigten einen wesentlich geringeren Gewichtsverlust als Mäuse aus der Kontrollgruppe (YANG et al., 2000a). Durch einen 1%igen Zusatz eines CLA-Isomerengemisches zum Futter von Ratten wurde eine Erhöhung des IgA-, IgG- und IgM-Spiegels, bei gleichzeitiger Reduktion der IgE-Synthese, beobachtet (SUGANO et al., 1997 und 1998). In der Milz und in der Lunge wurden reduzierte Gehalte an LTB_4 ermittelt, wobei der Rückgang dosis-abhängig war. In der Lunge wurde der Gehalt an LTC_4 verringert (SUGANO et al., 1998). In verschiedenen Geweben und im Serum konnte eine reduzierte Synthese von PGE_2 , das bei allergischen Reaktionen als Mediator fungiert (LEMKE und TAYLOR, 1994), ebenfalls nachgewiesen werden (WHIGHAM et al., 2000). Aufgrund dieser Ergebnisse wird vermutet, dass CLA die Immunantwort des Typs 2 (allergische Reaktionen) verändern.

Antidiabetogenität

In Untersuchungen an prädiabetischen fa/fa Ratten, die eine CLA-Gabe (Isomerengemisch) zum Futter erhielten, konnte die Glukosetoleranz normalisiert und die Hyperinsulinämie reduziert werden (HOUSEKNECHT et al., 1998). Zurückgeführt wird dieser Effekt ebenfalls auf die Aktivierung von PPAR, besonders auf $PPAR_\gamma$, und der Stimulierung der Adipocyten $\alpha P2$ Expression. Bei beiden Wirkungen wurden das oder die physiologisch aktive(n) CLA-Isomer(e) noch nicht identifiziert.

Antithrombotisch

Neben den beiden Einzelisomeren c9,t11-C18:2 und t10,c12-C18:2 zeigte das Gemisch aus gleichen Anteilen beider Isomere einen 50 bis 500 %igen Rückgang der von Arachidonsäure oder Kollagen induzierten Thrombocytenaggregation im Vergleich zu Linolsäure, deren positiver Einfluss auf die Thrombose bekannt ist (TRUITT et al., 1999). An der durch Thrombin und Calcium Ionophor A23187 induzierten Aggregation konnte der positive Effekt ebenfalls erreicht werden. Die Bildung des cyclooxygenase-katalysierten Thromboxans TXA₂ wurde inhibiert.

Toxikologische Unbedenklichkeit

Untersuchungen zur gesundheitlichen Unbedenklichkeit wurden bisher nur wenig durchgeführt. SCIMECA (1998) beschreibt eine Studie, in der „Fischer 344 Ratten“ eine 1,5 %ige Zulage eines CLA-Gemisches zum Futter über 36 Wochen erhielten. Ziel hierbei war es nicht, positive Effekte festzustellen, sondern die Unbedenklichkeit nachzuweisen. Im Vergleich zur Kontrollgruppe, die keinen CLA-Zusatz im Futter erhielten, zeigten die mit CLA gefütterten Tiere keine Veränderungen des Körpergewichtes oder ihres Verhaltens im Käfig. Von den 15 untersuchten Hauptorganen der Tiere, die eine CLA-Zulage im Futter erhielten, zeigte sich bei keinem Tier eine Gewichtsbeeinflussung oder eine Änderung im histologischen Befund. Hämatologische Untersuchungen des Blutes wiesen ebenfalls keine Veränderungen zur Kontrollgruppe auf.

Dagegen zeigten Untersuchungen von CHARDIGNY et al. (2001) an Mäusen, die mit einer Zulage von t10,c12-C18:2 im Futter gefüttert wurden, eine deutliche Lebervergrößerung und einen starken Abbau des Fettgewebes, während eine Kontrollgruppe (ohne Zulage von CLA-Isomeren) und eine mit c9,t11-C18:2-Zulage gefütterte Gruppe diese Veränderungen nicht vorwies.

1.2.2 HUMANSTUDIEN

Die bereits im Tierversuch gezeigten positiven physiologischen Wirkungen (s. 1.2.1) wurden bisher nur in wenigen Humanstudien überprüft. Toxikologische Untersuchungen von Einzelisomeren von CLA sind jedoch noch nicht durchgeführt worden, da die hierfür notwendigen großen Mengen noch nicht bereitgestellt werden konnten.

Verglichen mit den Prüfungen im Tiermodell umfassten die bisher durchgeführten Humanstudien meist Untersuchungen zum möglichen Effekt auf den Fettabbau und Proteinmasseaufbau. Die verabreichte Menge eines herkömmlich erhältlichen CLA-Isomerengemisches (TonalinTM, Safloröl mit 60 bis 80 % CLA) betrug dabei 3 bis 7,2 g/Tag. Hinzu kommt, dass es sich bei diesen Studien um Kurzzeitstudien handelt, deren Dauer von 28 Tagen bis 6 Monaten reicht (WHIGHAM et al., 2000).

In einer 64 Tage dauernden Studie an jungen, gesunden Frauen konnten keine Unterschiede zwischen der CLA- und der Kontrollgruppe hinsichtlich eines möglichen Fettgewebeabbaus und einer Proteinmassesteigerung ermittelt werden (ZAMBELL et al., 2000). Da Leptin die Fettleibigkeit regulieren soll, indem es die Nahrungsaufnahme reduziert und den Stoffwechsel anregt sowie Lipolyse in Adipocyten stimuliert, wurde an einer weiteren Studie (9 Wochen) der Einfluss von CLA auf den Leptingehalt untersucht. Es konnte nach 7 Wochen eine deutliche Reduzierung des Leptingehaltes ermittelt werden, der jedoch nach den letzten beiden Wochen wieder den ursprünglich höheren Ausgangswert annahm. Es konnten ebenfalls keine Veränderungen hinsichtlich eines möglichen Fettgewebeabbaus sowie einer Erhöhung der Proteinmasse festgestellt werden (MEDINA et al., 2000). Darüber hinaus wurde kein Einfluss auf die Anzahl der weißen Blutkörperchen, Granulocyten, Monocyten, Lymphocyten sowie eine Proliferation der Lymphocyten festgestellt. Somit konnte in dieser Studie kein Einfluss von CLA auf den Immunstatus ermittelt werden (KELLEY et al., 2000).

In einer 12-wöchigen doppel-blind und placebo-kontrollierten Humanstudie, die neben dem Einfluss von CLA auf den Fettgewebeabbau bzw. die Proteinmasseerhöhung auch die Sicherheit einer CLA-Supplementierung zeigen sollte, wurde Übergewichtigen und Adipösen 3,4 g CLA oder 4,5 g Olivenöl verabreicht. Hinsichtlich hämatologischer Befunde, Blutfettwerten, Leberenzymen, Elektrolytgehalten im Blut, Kreatiningehalt, Laktat Dehydrogenase oder Blutdruck bzw. Herzfrequenz konnten keine Unterschiede zwischen der CLA-supplementierten und der Kontrollgruppe ermittelt werden. Darüber hinaus zeigte sich in der CLA-Gruppe im Untersuchungszeitraum eine Reduzierung des Körpergewichtes um 1,1 kg und der Fettmasse um 0,9 kg. Jedoch sind diese Daten nicht signifikant (BERVEN et al., 2000).

1.2.3 STOFFWECHSELWEG

Bei Ratten, die eine CLA-haltige Diät erhielten, wurde ein Rückgang des Gehaltes von Arachidonsäure, der Ausgangssubstanz für die Eicosanoidbiosynthese (SMITH et al. 1991), in Gewebe festgestellt (BANNI et al. (1999a). Dagegen wurde ein erhöhter Gehalt von konjugierten C18:3 und C20:3 Fettsäuren in diesen Geweben beobachtet, für die gezeigt werden konnte, dass sie den Eicosanoidbiosyntheseweg inhibieren (NUGTEREN, 1970; NUGTEREN und CHRIST-HAZELHOF, 1987).

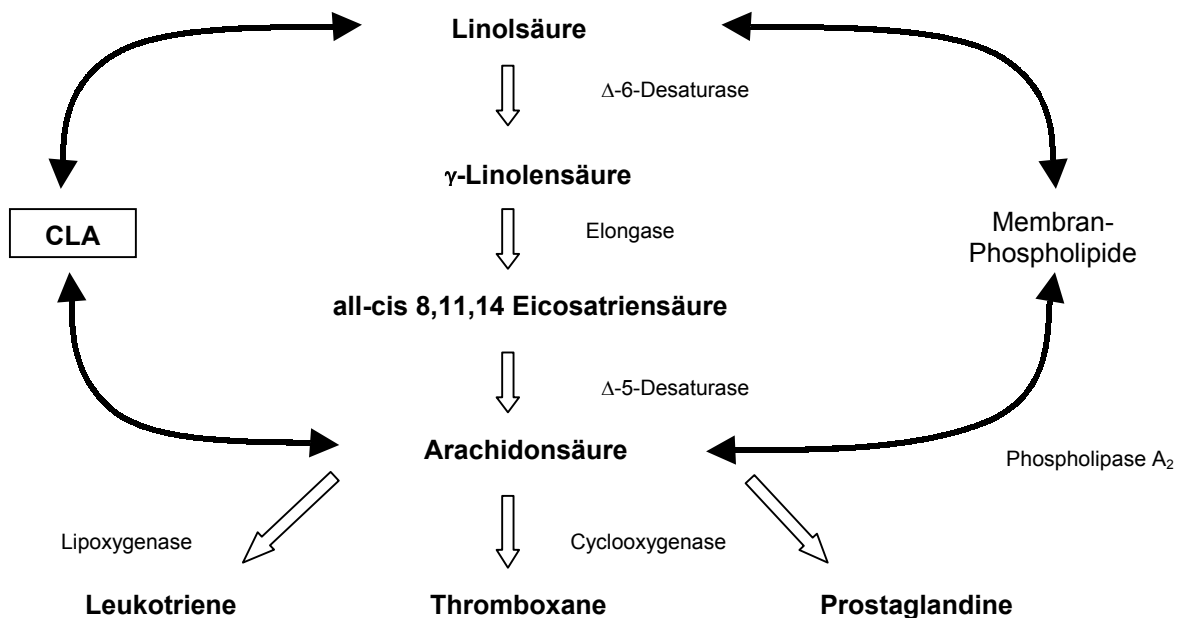


Abb. 1.4 Metabolismusschema von Linolsäure

Dass die CLA die Eicosanoidbiosynthese beeinflussen, könnte neben der antikanzerogenen Wirkung auch die immunmodulierende Funktion (CHEW et al., 1997) und antiatherogene Aktivität (LEE et al., 1994), sowie in gewissem Masse die antidiabetogenen (HOUSEKNECHT et al., 1998) Eigenschaften erklären, da die bei der Biosynthese entstehenden Eicosanoide vielfältige biologische Wirkungen gerade in diesen Bereichen aufweisen. So hat z.B. PGE₂, neben der Cancerogenese beeinflussenden Wirkung, zusammen mit dem Prostacyclin eine widerstandsmindernde Wirkung, und Thromboxan (TX) fördert arterielle Verschlusskrankheiten durch Thrombozytenaggregation (EISENBRAND und SCHREIER, 1995). Bei Diabetes mellitus mit Gefäßkomplikation findet sich eine Störung im Verhältnis von TX zu PGI. Auch für die Entstehung von Arteriosklerose wird eine Störung des Gleichgewichtes zwischen TX und PGI verantwortlich gemacht (LÖFFLER und PETRIDES, 1998).

Die Stoffwechselprodukte der Linolsäure stellen die Eicosanoide dar. Sie sind Metaboliten der Arachidonsäure, die mit systematischem Namen 5,8,11,14-Eicosatetraensäure heißt, wovon sich der Gruppenname ableitet. Der Begriff Eicosanoide umfasst eine Vielzahl von Verbindungen, die entsprechend ihrer Bildung (s. Abb. 1.7) in zwei Gruppen eingeteilt werden: die PG (incl. Prostacyclin) und TX, sowie die Leukotriene (LT).

Der Name Prostaglandine geht darauf zurück, dass sie irrtümlicherweise für ein Sekret der Prostata gehalten wurden. Sie sind formal Derivate der Prostansäure (s. Abb. 1.5).

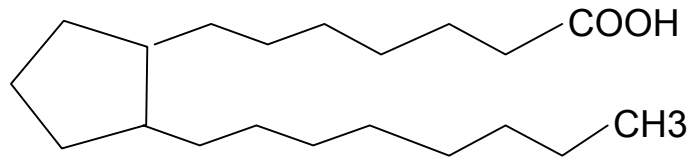
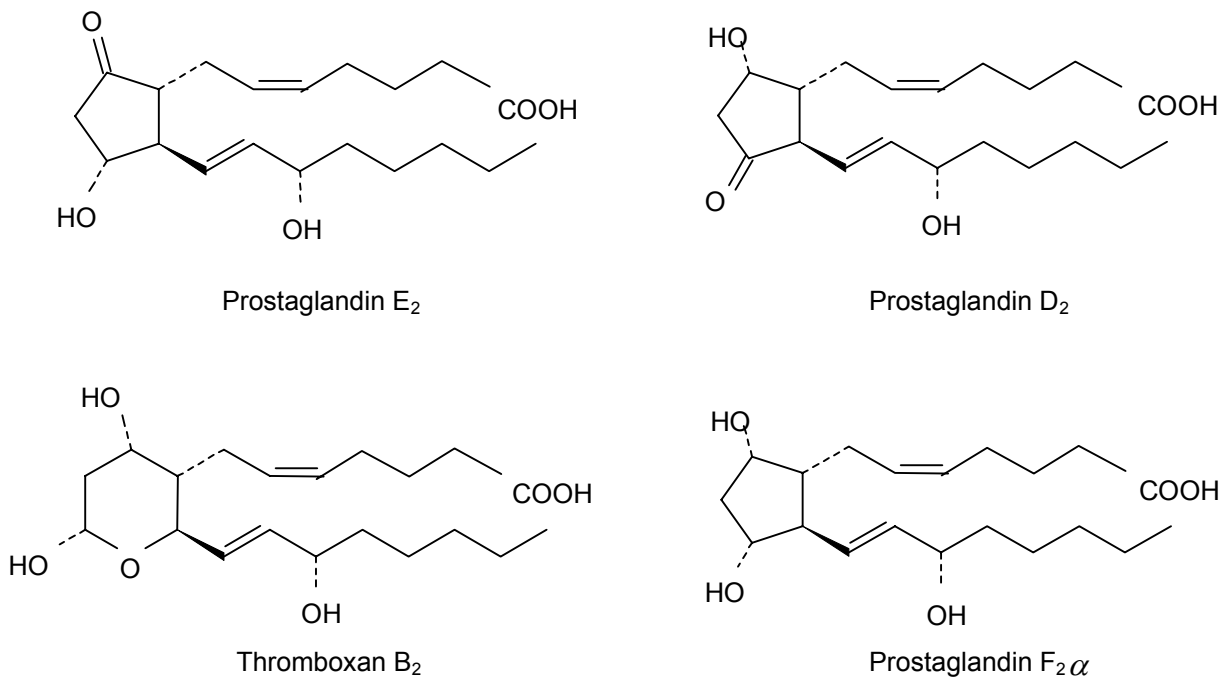


Abb. 1.5 Strukturformel der Prostansäure

Ca. 90 % der natürlich vorkommenden Stoffe dieser Gruppe sind PGD_2 , PGE_2 und $\text{PGF}_2\alpha$ und TXB_2 (SCHRÖR, 1990) (s. Abb. 1.6). Sie entstehen aus den sehr instabilen Zwischenprodukten PGG_2 und PGH_2 sowie TXA_2 . Die Buchstaben D, F, G oder H geben die Art und die Stellung der Sauerstoff-gruppen der Verbindung an. Die Zahl 2 im Index weist auf die Zahl der Doppelbindungen in den Seitenketten hin und zeigt an, dass diese Wirkstoffe sich damit von der Arachidonsäure ableiten. Die Stellung der OH-Gruppe an C9 wird durch die Bezeichnung α oder β gekennzeichnet; α bedeutet unter, β über der Ringebene. Die andere Gruppe der Eicosanoide, die LT, erhielten ihren Namen, weil sie aus weißen Blutzellen gewonnen werden können und drei konjugierte Doppelbindungen enthalten. Die LT werden entsprechend ihrer Bildungsreihenfolge im Organismus mit den Großbuchstaben A-E gekennzeichnet: Aus dem labilen Zwischenprodukt A entsteht B oder C, aus C kann dann D oder E entstehen. Die Zahl im Index gibt die Anzahl der Doppelbindungen an.

Abb. 1.6 Strukturformeln von PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_2\alpha$ und TXB_2

Die Ausgangssubstanz für die Bildung der genannten Eicosanoide ist die Arachidonsäure. Im natürlichen Stoffwechselweg wird sie aus PL durch Aktivierung membranständiger Phospholipase A₂ freigesetzt.

Die beiden Gruppen von Arachidonsäuremetaboliten entstehen über den Cyclooxygenase- bzw. Lipoxygenaseweg, wie in Abb. 1.7 dargestellt. Über den Cyclooxygenaseweg entstehen die PG einschließlich des Prostacyclins und des TX, während über den Lipoxygenaseweg offenkettige Hydroperoxy- und Hydroxysäuren, sowie insbesondere die LT entstehen. Der Arachidonsäurestoffwechsel ist schematisch in Abb. 1.7 dargestellt. Prostaglandine können in fast allen Geweben gebildet werden (Ausnahme z.B. Erythrocyten) und sind in den meisten Organen und Organsystemen und im Immunsystem wirksam (Tab. 1.1) (EISENBRAND und SCHREIER, 1995).

Tab. 1.1 Wirkungen einiger Eicosanoide (EISENBRAND und SCHREIER, 1995)

Eicosanoid:	Wirkung:
PG (allgemein)	Mediator bei Entzündungsvorgängen, erhöhen die Empfindlichkeit der Schmerzrezeptoren, lösen Migräneanfälle aus
PGE	Gefäßerweiternd, widerstandsmindernd und blutdrucksenkend, hemmen Magensaftsekretion, glatte Muskulatur wird kontrahiert, Ringmuskeln relaxiert, Mediator bei Entzündungsvorgängen
PGI	Stark gefäßerweiternd
PGF	Ringmuskeln werden kontrahiert
TX	Fördert Thrombocytenaggregation, starker Vaso - und Broncho-konstriktor
LT (allgemein)	Stark bronchokonstriktorisch, in der Lunge sekretionsfördernd, allergische Reaktionen und Anaphylaxie auslösend, durch starke Verengung der Atemwege Asthma auslösend, Schlüsselrolle bei Entzündungsvorgängen
LTB ₄	Durch Chemotaxis Adhäsion der Leukocyten an die Blutgefäße, bewirkt Aggregation von Leukocyten sowie die Freisetzung oxidierender Enzyme

PG und TX werden normalerweise nicht in Gewebe gespeichert, sondern werden erst bei Bedarf biosynthetisiert (GOSWAMI et al, 1981). PGE₂ und PGF_{2α} werden im Organismus so rasch abgebaut, dass sie nach einer einzigen Lungenpassage nicht mehr nachweisbar sind. Nach einer Injektion von PGE₂ waren im Blut von Versuchspersonen nach 90 Sekunden nur noch 3 % der injizierten Menge nachweisbar (FORTH et al, 1997).

Die Wirksamkeit der Eicosanoide ist schon bei sehr geringen Mengen im Vergleich zu anderen biologisch wirksamen Substanzen ausgesprochen hoch (EISENBRAND und SCHREIER, 1995). Daraus lässt sich eine gewisse Hormon-Ähnlichkeit ableiten. Aus diesen Gründen ist die aktuelle Konzentration der Eicosanoide im Gewebe außerordentlich gering.

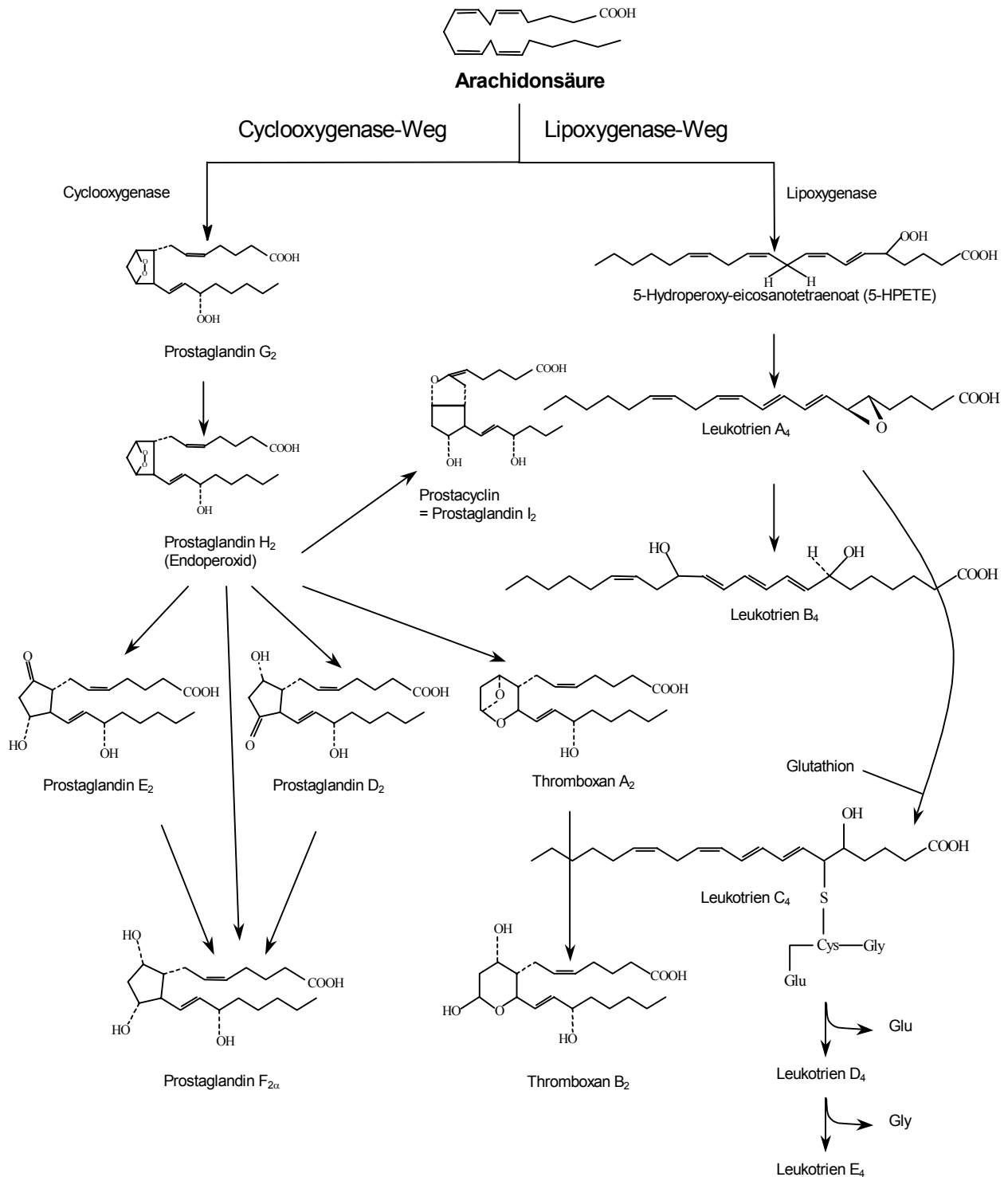


Abb. 1.7 Schematische Darstellung des Arachidonsäurestoffwechsels (modifiziert nach LÖFFLER und PETRIDES, 1998)

1.3 Gehalte in Lebensmitteln

Die Hauptquelle von CLA im menschlichen Körper stellt die Aufnahme von Lebensmitteln dar, die CLA enthalten. Aufgrund der Bildung von CLA im Pansen von Wiederkäuern und des Carry-over-Effektes enthalten Milch, Milchprodukte, Fleisch und Fleischprodukte von Wiederkäuern die höchsten Gehalte an CLA (Abb. 1.8). Bisher wurden lediglich zwei Untersuchungen zu Lebensmittelwarenkörben publiziert (CHIN et al., 1992; FRITSCHKE und STEINHART, 1998b). Weitere Autoren untersuchten hauptsächlich Fleisch und Fleischprodukte sowie Milch und Milchprodukte. So konnten FRITSCHKE und STEINHART (1998b) für Milch und Milchprodukte wie Käse, Butter, Joghurt oder Speiseeis mittlere Gehalte von 0,84 bis 1,16 % CLA bezogen auf die Gesamtfettsäuren ermitteln. Die von CHIN et al. (1992) ermittelten Gehalte für Milch und Milchprodukte lagen mit 0,29 bis 0,71 % etwas darunter. Zurückzuführen ist dies auf eine verringerte CLA-Bildung im Pansen von Wiederkäuern in Amerika und Kanada aufgrund anderer Fütterungsbedingungen. Auch SHANTHA et al. mit 0,32 bis 0,89 % (1992) bzw. 0,36 bis 0,62 % (1995), LIN et al. (1995) mit 0,36 bis 0,80 % sowie MA et al. (1999) mit 0,36 bis 0,62 % konnten geringere CLA-Gehalte ermitteln.

In Fleisch und Fleischprodukten betrug der CLA-Gehalt 0,11 bis 1,20 %, während der Gehalt in Kuchen und Gebäck bei 0,32 % lag (FRITSCHKE und STEINHART, 1998b). Auch im Fleisch lassen sich Unterschiede nach der Herkunft der Lebensmittel erkennen. So bestimmten CHIN et al. (1992) CLA-Gehalte von 0,05 bis 0,59 % in Fleisch von Rindern, Lämmern, Puten, Schweinen und Hähnchen. Wie auch bei FRITSCHKE und STEINHART (1998b) wird über niedrige CLA-Gehalte in Nicht-Wiederkäuerfleisch berichtet. Ähnlich niedrige Gehalte in Fleisch kanadischer bzw. amerikanischer Herkunft konnten MA et al. (1999) und FRITSCHKE et al. (2000) ermitteln. Der CLA-Gehalt in Fleisch kanadischer Rinder lag bei 0,08 bis 0,37 %, während er in amerikanischen Kühen ca. 0,35 % betrug.

Deutlich geringer waren die ermittelten Gehalte in Fischen (0,05 %), Schokoladen (0,14 %) oder Speiseölen, Margarine, Frittierfetten, Pommes Frites oder Chips (< 0,01 %) (FRITSCHKE und STEINHART, 1998b).

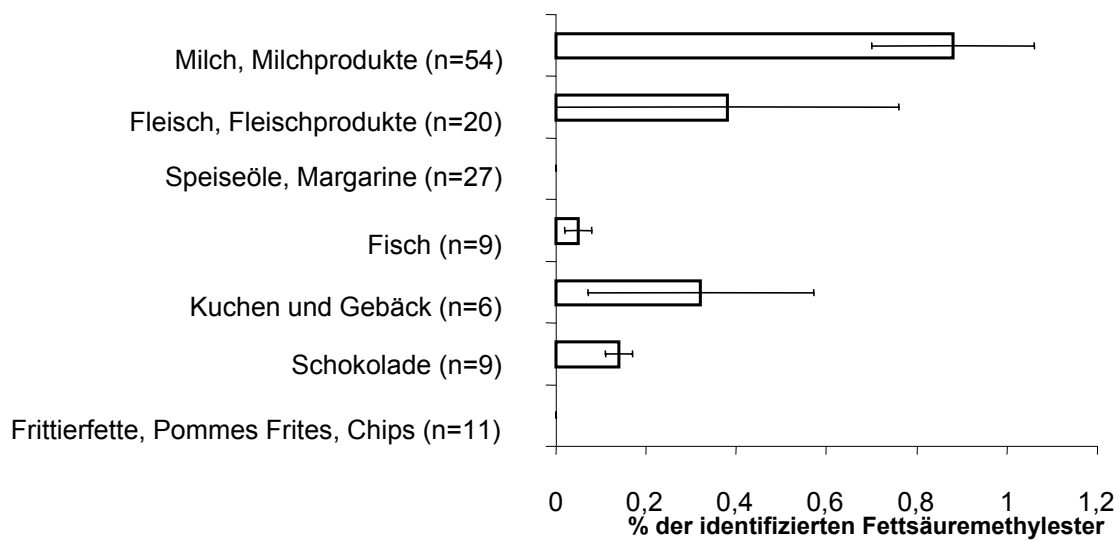


Abb. 1.8 Gehalte von c9,t11-C18:2 in verschiedenen Lebensmittelgruppen bezogen auf Fett (FRITSCHKE und STEINHART, 1998b)

Pflanzliche Rohstoffe, die in den zuletzt genannten Produkten verwendet werden, enthalten natürlicherweise kein CLA. Kuchen und Gebäck weisen aufgrund der verwendeten Milch oder Milchprodukte erhöhte CLA-Gehalte auf. Der CLA-Gehalt in Schokolade ist auch auf die Verwendung CLA-reicher Ausgangsprodukte zurückzuführen. Alle in diesem Kapitel dargestellten CLA-Gehalte umfassen jedoch nur das Hauptisomer c9,t11-C18:2. Aufgrund der ermittelten Gehalte von CLA in Lebensmitteln schätzten FRITSCHKE und STEINHART (1998b) die tägliche Aufnahme von CLA mit 0,43 g/Tag bei Männern und mit 0,35 g/Tag bei Frauen.

1.4 Problemstellung

Zur Bestimmung von CLA in biologischen Matrices und synthetischen Präparaten wurde in den bisherigen Arbeiten über das Vorkommen und die physiologischen Wirkungen fast ausschließlich die Gaschromatographie zur Bestimmung herangezogen. Die Analytik von CLA in biologischen Matrices beschränkte sich bisher nahezu ausschließlich auf das Hauptisomer (c9,t11-C18:2) (s. auch 1.3).

Eine differenziertere Betrachtung der CLA sollte aber auch die zahlreichen Isomeren berücksichtigen, die stets in biologischen und synthetischen Matrices nachweisbar sind (FRITSCHÉ et al., 1997; SEHAT et al., 1998a). Dies ist insofern bedeutsam, da z.B. das physiologisch aktive Isomer für den anabolen Effekt das t10,c12-C18:2-Isomer ist. Alle älteren physiologischen Studien (vor 1999 veröffentlicht) wurden mit CLA-Mischpräparaten durchgeführt, die eine Vielzahl von CLA-Isomeren enthielten. Es ist daher ersichtlich, dass die Bestimmung von CLA-Mustern für die Beurteilung individueller CLA-Isomere zum derzeitigen Zeitpunkt von entscheidender Bedeutung für die CLA-Forschung ist.

Hinsichtlich der Bildung von CLA durch TFA (s. 1.1) wurden in bisherigen Arbeiten entweder CLA-Isomerengemische oder trans-Vaccensäure eingesetzt. Da bei der Fetthärtung nicht nur diese trans-Fettsäure entsteht, sondern weitere trans-C18:1-Isomere gebildet werden, sollte auch deren Einfluss auf die Bildung von CLA untersucht werden. Darüber hinaus geben die ermittelten Daten der Bildung von CLA durch TFA keine Informationen zu einzelnen CLA-Isomeren.

Zur Bestimmung von Eicosanoiden in biologischen Matrices können ebenfalls zahlreiche chromatographische (z.B. Gaschromatographie, Flüssigchromatographie) oder immunologische Verfahren angewandt werden (TSIKAS, 1998). Die am häufigsten angewendeten Verfahren sind radio immuno assays (RIA) und enzyme immuno assays (EIA) sowie GC-MS. Die Nachteile der Assays sind jedoch fehlende Systeme für alle Eicosanoide und fehlende Spezifität gegenüber den zu untersuchenden Eicosanoiden, speziell in komplexen Matrices wie Gewebe oder Plasma. Mit gaschromatographischen Methoden lassen sich aufgrund der hohen Selektivität und Auflösungsfähigkeit hingegen viele Eicosanoide gleichzeitig bestimmen. Jedoch müssen alle untersuchten Eicosanoide durch Derivatisierung flüchtig und bei den gewählten GC-Bedingungen thermisch stabil sein. Die Quantifizierung wird aufgrund der niedrigen Eicosanoidgehalte in den untersuchten Matrices meist über GC-MS mit negativ-chemischer Ionisation durchgeführt (TSIKAS, 1998). Neuere Methoden basierend auf HPLC-MS beinhalten Verlustbegrenzung bei der Derivatisierung und Analysen bei Raumtemperaturen.

Eine differenziertere Betrachtung verschiedener Eicosanoide sollte wie bei den CLA-Isomeren auch, neben dem PGE₂ weitere Eicosanoide umfassen. Es ist ersichtlich, dass die Bestimmung von Eicosanoid-Mustern für die Beurteilung individueller Eicosanoide einen wichtigen Beitrag für die CLA Forschung leisten kann.

Aus den bisher dargelegten Gründen lassen sich die Ziele der vorliegenden Arbeit zusammenfassend folgendermaßen formulieren:

1. Optimierung der CLA-Einzelisomerenanalytik durch Kombination verschiedener chromatographischer Verfahren (GC, HPLC).
2. Identifizierung unbekannter CLA-Isomere durch den Einsatz chemischer (partielle Hydrazinreduktion) und spektrometrischer Verfahren (MS, FTIR).
3. Untersuchung des Einflusses von Herstellungsbedingungen (Temperatur) in Milch und Milchprodukten sowie von Fütterungseinflüssen (Weide- bzw. Stallmast; α -Tocopherolzulage) in Fleisch von Rindern (Ochse, Bulle) auf den CLA-Gehalt und das CLA-Isomerenmuster Diese Lebensmittel wurden ausgewählt, weil sie die höchsten CLA-Gehalte aufweisen.
4. Ermittlung des CLA-Gehaltes und CLA-Isomerenmusters in Humangewebe (Fett- und Tumorgewebe) zur Erfassung von Unterschieden, die Hinweise auf mögliche physiologische Wirkungen geben sollten. Um in den genannten Geweben ebenfalls Gehalte ausgewählter Eicosanoide hinsichtlich der Beeinflussung von CLA auf den Arachidonsäurestoffwechsel zu bestimmen, sollte hier zunächst eine geeignete analytische Methode entwickelt werden, die anschließend auf das Gewebe angewendet werden sollte.
5. Um die Bildung von CLA aus TFA zu validieren, sollte der Einfluss einer TFA-reichen Ernährung auf den CLA-Gehalt und das CLA-Isomerenmuster in verschiedenen Lipidklassen (Triacylglycerine, Cholesterolester (CE), Phospholipide) von Humanplasma ermittelt werden.

2 Referenzsubstanzen und Untersuchungsmaterial

2.1 Referenzsubstanzen Fettsäuren

Für die Analytik (s. Kap. 3) der CLA-Isomere sowie die Identifizierung wurde ein CLA-Methylester-Standard-Isomerengemisch verwendet (s. Anhang 6.1). Einzelne Isomere (t9,t11, c9,t11, t10,c12 und c9,c11) wurden als freie Fettsäuren bezogen. Diese wurden mit Bortrifluorid (BF₃)/Methanol (MeOH) in ihre Methylester (ME) überführt (AOCS, 1990).

Ausgangsverbindungen für die Optimierung der partiellen Hydrazinreduktion von CLA-Isomeren waren die ME der CLA-Isomere c9,t11 und t10,c12 sowie die freie Fettsäure des CLA-Isomers c9,t11. Das CLA-ME-Standard-Isomerengemisch wurde für die Identifizierung der Δ 11, Δ 13-, Δ 7, Δ 9- und Δ 9, Δ 11-CLA-Isomere verwendet (s. 6.1).

Um das Gesamtfettsäuremuster der untersuchten Proben zu bestimmen, wurden die in 6.1 beschriebenen Fettsäuremethylester- (FSME) Standardlösungen verwendet. Die Identifizierung der Δ 7, Δ 9, Δ 11, und Δ 13-C18:1-Isomere erfolgte durch einen cis- und einen trans-C 18:1-Mischstandard (s. 6.1).

2.2 Referenzsubstanzen Eicosanoide

Für die Eicosanoid-Analytik wurden als Standardsubstanzen die PGE₂, F₂ α , D₂ und das TXB₂ verwendet. PGE₂ wurde auf Grund seiner oft diskutierten Cancerogenese beeinflussenden Eigenschaften ausgewählt, es stellt im Zusammenhang mit der anti-cancerogenen Wirkung der CLA das wichtigste PG dar. Da PGD₂ sich von PGE₂ nur durch die Stellung der Hydroxy- und Keto-Gruppe unterscheidet und somit die gleichen Massen-Fragmente bildet wie PGE₂, wurde dieses PG ebenfalls in die Untersuchung eingeschlossen. PGF₂ α ist sowohl ein Abbauprodukt von PGE₂ als auch von PGD₂. Diese drei genannten PG machen zusammen ca. 90 % der in Gewebe vorkommenden PG aus (SCHRÖR, 1990). TXB₂ ist bei der Biosynthese über den COX-Weg das erste stabile TX und hat in bezug auf thrombotische Wirkungen den größten Einfluss. Die Identifizierung der Eicosanoide erfolgte über einen selbst angesetzten Mischstandard (s. Anhang 6.2), der PGE₂, F₂ α , D₂ und TXB₂ enthielt. Die Gehalte der PG wurden über einen vierfach deuterierten, internen PGE₂ Standard und über einen externen Standard bestimmt (s. Anhang 6.2).

2.3 Lebensmittel

Die Auswahl der Lebensmittel richtete sich nach in der Literatur beschriebenen CLA-Gesamtgehalten. Da Milch, Milchprodukte und Fleisch von Wiederkäuern die höchsten CLA-Gehalte in Lebensmitteln besitzen (CHIN et al., 1992; FRITSCHKE und STEINHART, 1998b), wurden diese zur Untersuchung herangezogen und aus einem örtlichen Supermarkt bezogen.

Je nach Fütterungsart von Rindern ergaben sich deutliche Unterschiede im Gesamtfettsäuremuster und im CLA-Gehalt der Milch (JAHREIS et al., 1997). LIN et al. (1998) zeigten, dass bei der Produktion von Cheddar-Käse ein Zusatz eines Antioxidans (tert-Butylhydroxianisol) ein Rückgang von CLA im fertigen Produkt bewirkte. Um einen möglichen Einfluss der Fütterungsart und eines Antioxidans auf den CLA-Gehalt in Fleisch zu untersuchen, wurde ergänzend der CLA-Gehalt und das CLA-Isomerenmuster in Fleisch von Bullen nach α -Tocopherolacetatfütterung untersucht. Die untersuchten Ochsen gehörten zur Rasse Deutsches Fleckvieh. Sie wurden bis zu einem Lebendgewicht von 580-600 kg aufgezogen. Eine Gruppe der Ochsen wurden mit einer Maissilage zuzüglich einer Krafffutterergänzung bestehend aus Eiweiß- und Mineralstoffen gefüttert (Silagefütterung). Die andere Gruppe wurde ausschließlich auf der Weide gehalten (Gras und Rotklee; Weidefütterung). Aus jeder Gruppe wurde das Fleisch des *Musculus longissimus dorsi* (M.l.d.) von vier Tieren untersucht. Die Bullen gehörten ebenfalls zur Rasse Deutsches Fleckvieh. Sie wurden bis zu einem Lebendgewicht von 640 kg mit Maissilage und Krafffutterergänzung aufgezogen. Zwei Gruppen wurden mit 1000 mg α -Tocopherol pro Tier und Tag gefüttert. Eine Gruppe erhielt diese Zulage 180 Tage, während die andere Gruppe die Zulage 270 Tage erhielt. Die Kontrollgruppe erhielt gleiches Futter ohne α -Tocopherolzulage. Auch hier wurde das Fleisch des M.l.d. untersucht. Die Bullen wurden dabei in eine Kontrollgruppe (keine Zulage), 180 Tage Zulage- und 270 Tage Zulage-Gruppe aufgeteilt. Die aufgenommene Menge betrug 1000 mg α -Tocopherolacetat pro Tag. Einen Überblick über das Studiendesign gibt Tab. 2.1. Genauere Angaben finden sich bei TIMM (2000) sowie im Anhang unter 6.3.

Tab. 2.1 Studiendesign zur Fleischuntersuchung

	SGO *)	WGO	B KG	B 180	B 270
Tiere	Ochsen	Ochsen	Bullen	Bullen	Bullen
Fütterungs- unterschiede	Maissilage, Konzentrat	Gras und Klee	Ohne α -Tocopherolacetat Zulage	1000 mg α -Tocopherolacetat 180 Tage	1000 mg α -Tocopherolacetat 270 Tage
Tieranzahl	4	4	4	2	4

*) SGO = Silagegefütterte Ochsen; WGO = Weidegefütterte Ochsen; B KG = Bullen ohne α -Tocopherolzulage; B 180 = Bullen mit 180 Tage α -Tocopherolacetatzulage; B 270 = Bullen mit 270 Tagen α -Tocopherolzulage

2.4 Mamma- und Ovargewebeproben

Das Mammakarzinom ist bei Frauen im Alter von 18- 85 Jahren der am häufigsten auftretende Krebstyp. Bei Frauen <60 Jahren gilt Brustkrebs als die Haupttodesursache. Während duktale Mammakarzinome dem Epithel (Oberflächengewebe) entstammen, entstehen lobuläre Mammakarzinome aus dem Gewebe der Drüsenläppchen und der terminalen Gänge (ROCHE LEXIKON MEDIZIN, 1998). Die Einteilung der Karzinome erfolgt nach dem TNM-System. Durch dieses System werden maligne Tumoren anhand ihrer Ausdehnung von T1 als kleinstes bis T4 als größtes Karzinom klassifiziert. Ein Fehlen bzw. Vorhandensein von regionalen Lymphknotenmetastasen wird mit „N“ bezeichnet. Die Beurteilung geht von „Nx“ = nicht zu beurteilen über „N0“ = nicht vorhanden bis „N3“ = größter Befall. Das sogenannte Grading (histologischer Differenzierungsgrad; G1-G3) richtet sich nach der Beurteilung der Malignitätskriterien (STEGNER, 1994; ROCHE LEXIKON MEDIZIN, 1998).

Das Ovarialkarzinom zählt als sechsthäufigster Krebs der Frau, aber mit der zweit schlechtesten Prognose. 70% aller Ovarialkarzinome werden erst im fortgeschrittenen Stadium erkannt. Fast 9% aller Ovarialmalignome sind epitheliale Karzinome (GYN, 1998). Im Ovar kennt man histologisch sehr verschiedene maligne Tumoren (BASTERT, 1996). Grundlage der Klassifizierung der Ovarialtumoren sind die histologischen Merkmale, die auf die mögliche Histogenese der entsprechenden Tumoren hinweisen (SEROV et al., 1973). Eine genaue Einteilung der Ovarialtumoren nach WHO finden sich bei KOCH et al. (1989). Eine der häufigsten Metastasenlokalisationen des Ovarialkarzinoms ist das große Netz. Von nur mikroskopisch erkennbaren bis hin zu diffusen grobknotigen Tumordurchsetzung des gesamten Netzes finden sich alle Übergänge (BASTERT, 1996). Die Ermittlung von Art und Ausbreitung des Ovarialtumors findet anhand der Stadieneinteilung bzw. des Stagings, basierend auf den Richtlinien der FIGO 1964/91 statt (FIGO, 1994).

Für die CLA- und Eicosanoid Bestimmungen wurden von 17 Patientinnen im Alter von 47 bis 83 Jahren Gewebeproben untersucht. Bei den Gewebeproben handelte es sich um intraoperativ gewonnene Biopsien von Mammakarzinomen (ernährungsbeeinflusst) und Ovarialkarzinomen (nicht ernährungsbeeinflusst). Weiterhin wurden von den Patientinnen mit Mammakarzinomen tumornahes und gesundes, tumorfernes Fettgewebe bzw. bei den Patientinnen mit Ovarialkarzinomen Fettgewebe an der Bauchdecke entnommen. Dies stellte für die durchgeführten Untersuchung ein vergleichbares, gesundes Fettgewebe zum Ovar dar. Bei einer Patientin wurde zusätzlich ein tumorinfiltriertes Netz entnommen. Beim Netz handelt es sich um ein fettgewebsreiches Bauchfellgewebe, das nicht mehr einem Ovar tumor zuzuordnen ist. Die Proben bezeichnet mit „a“ entsprechen Tumorgewebe. Mit „b“ gekennzeichnete Proben entstammen Fettgewebe, das direkt am Tumor liegt, während „c“ Fettgewebe aus Tumor entfernteren Bereichen stammt. Letzteres stellt das eigentliche Kontrollfettgewebe dar.

Bei den Mammakarzinomen wurden jeweils drei verschiedene Proben eines Biopsates aus dem direkten Karzinombereich sowie dem tumornahen und tumorfernen Fettgewebe aufgearbeitet und die Gehalte von CLA-Isomeren und der genannten Eicosanoide bestimmt. Bei den Ovarialkarzinomen wurden vier verschiedene Proben eines Biopsates aus dem direkten Karzinombereich sowie Fettgewebe aus der Bauchdecke aufgearbeitet und ebenfalls die CLA und Eicosanoidgehalte bestimmt. Auf gleiche Weise wurde das tumorinfiltriertes Netz untersucht. Eine genaue Darlegung der Histologien, die Aufschlüsselung und Nummerierung der Humangewebe-proben findet sich unter 6.4 im Anhang.

2.5 Humanplasma

Zur Überprüfung der Bildung von CLA-Isomeren aus TFA wurde einer Gruppe aus fünf Probanden in einer Interventionsstudie über einen Gesamtzeitraum von zwei Monaten eine TFA-reiche Ernährung verabreicht. Die Studie wurde nach dem in Tab. 2.2 dargestellten Schema durchgeführt. Die volle TFA-Aufnahme betrug 48 g TFA/Tag, die halbe TFA-Zufuhr entsprechend 24 g TFA/Tag. Die Aufnahme der TFA erfolgte über eine TFA-reiche Margarine, die zum Backen von Keksen (250 g Margarine, 200 g Zucker, 375 g Mehl) und zur Herstellung eines Brotaufstriches (aus Margarine und Magerquark + Paprika oder Schnittlauch) verwendet wurde. Die TFA-reichen Produkte wurden an den entsprechenden Tagen zusätzlich zur normalen Ernährung verzehrt. Die TFA-Gehalte, TFA-Isomerenverteilung sowie CLA-Gehalte und CLA-Isomerenverteilung der Margarine sind in Anhang 6.5 aufgeführt. Das Blut wurde täglich nach Studienbeginn jeweils morgens entnommen und zur Auftrennung des Plasmas und der Erythrocyten zentrifugiert. Die Gehalte aller Fettsäuren wurden jeden Tag nach Abnahme des Blutes im Plasma bestimmt. Probandendaten sowie Daten zur Nährstoffaufnahme der gesamten Studie sind ebenfalls im Anhang unter 6.5 dargestellt.

Tab. 2.2 TFA-Gehalt der Nahrung der Probanden an den unterschiedlichen Blutabnahmetagen

Abnahmetag	TFA-Gehalt (g/Tag)
Tag 1 – Tag 5	0
Tag 6 – Tag 15	48
Tag 16 – Tag 20	0
Zwei Wochen Pause	0
Tag 21 – Tag 30	24
Tag 31 – Tag 35	0

3 Analytik

3.1 Fettsäureanalytik

Aufgrund der Verwendung von teilweise undefinierten CLA-Isomerengemischen bei den physiologischen Untersuchungen, die in einer Reihe sehr unterschiedlicher Ergebnisse mündeten, ist eine zuverlässige Analytik für die Interpretation der Ergebnisse dringende Voraussetzung. Besonders erschwert wird die Interpretation durch das Vorhandensein einer großen Anzahl von CLA-Einzelisomeren.

Einen Überblick über die angewendete CLA-Analytik gibt das Schema in Abb. 3.1. Zunächst wird das Fett mittels geeigneter Lösungsmittel aus der Matrix isoliert (s. Anhang 6.10). Eine anschließende Umesterung zu FSME erfolgt unter alkalischen Bedingungen (Kaliummethylat) bei niedriger Temperatur.

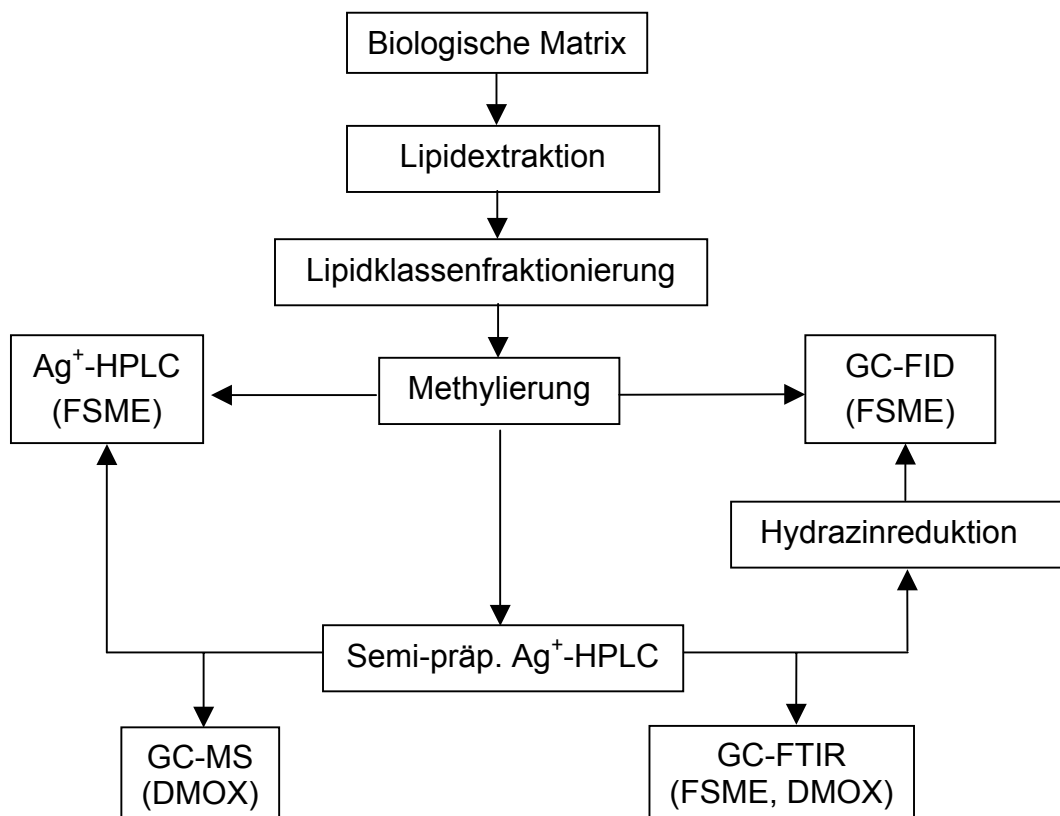


Abb. 3.1 Analysenschema zur Bestimmung und Identifizierung von CLA-Isomeren

Nach Umesterung erfolgt die Quantifizierung mittels GC-FID für die FSME- und CLA-Gehalte und Ag⁺-HPLC für die CLA-Isomeren. Eine notwendige Identifizierung erfolgt nach Anreicherung über semi-präparativer Ag⁺-HPLC über GC-MS als Dimethyloxazolin- (DMOX) Derivat zur Bestimmung der Position der Doppelbindung und mittels GC-FTIR als FSME oder DMOX-Derivat zur Ermittlung der Doppelbindungs-konfiguration.

Da jedoch eine Konfigurationsunterscheidung von cis,trans bzw. trans,cis mit FTIR nicht möglich ist, wurde zusätzlich eine partielle Hydrazinreduktion angewendet. Die hierbei entstehenden C18:1-Isomere wurden anschließend über GC-FID anhand von Einzelstandards identifiziert. Ein Rückschluss auf die vorhandenen C18:2-Isomere war dann möglich.

3.1.1 LIPIDEXTRAKTION

Die ausgewählte Extraktionsmethode sollte neben den freien, leicht extrahierbaren Fetten auch die Lipide erfassen, die chemisch oder absorptiv an Proteine gebunden sind. Da Verbindungen mit einem konjugierten Doppelbindungssystem wie CLA durch Temperaturerhöhung zur Autoxidation neigen (SHEPPARD und IVERSON, 1975; CHRISTIE, 1989), wurde eine schonende Extraktionsmethode gewählt, die bei Raumtemperatur ablaufen konnte. Zur Stabilisierung gegen oxidative Prozesse wurde tert-Butylhydroxytoluol (BHT) zugesetzt.

Fleischproben

Die Fettextraktion der Fleischproben erfolgte nach einer Methode von PFALZGRAF (1995). Das tiefgekühlte Fleisch wurde in der Moulinette zerkleinert und im Ultra-Turrax unter Eiskühlung mit Dichlormethan (DCM)/MeOH (2/1; v/v) homogenisiert. Die starken Scherkräfte des Ultra-Turrax zerstörten dabei die Zellbestandteile. Gleichzeitig wurde das Fett durch Einwirken des Lösungsmittels extrahiert. Der Überstand wurde durch Zentrifugation abgetrennt und der Rückstand noch zweimal mit dem Lösungsmittelgemisch und einmal mit n-Hexan im Ultraschallbad extrahiert. Die Überstände wurden jeweils zentrifugiert, vereinigt und am Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeeengt. Der Rückstand wurde in wassergesättigtem DCM aufgenommen und im Ultraschallbad gelöst. Eine definierte Menge wurde abgenommen, im Stickstoffstrom bis zur Trockene eingeeengt und in n-Hexan aufgenommen. Die genaue Beschreibung der Methode befindet sich in Anhang 6.6.

Käseproben

Der Käse wurde in der Moulinette zerkleinert und anschließend mit wasserfreiem Natriumsulfat und n-Hexan im Ultra-Turrax unter Eiskühlung extrahiert. Das Lösungsmittel wurde abfiltriert und im Stickstoffstrom bis zur Trockene eingeeengt. Ein Teil wurde eingewogen und in n-Hexan aufgenommen (s. Anhang 6.6).

Humangewebeproben

Die Humangewebeproben wurden mit einer modifizierten Extraktion nach FOLCH et al. (1957) aufgearbeitet. Das Humangewebe wurde mit flüssigem Stickstoff tiefgekühlt, zerkleinert und mit einem Lösungsmittelgemisch unter Verwendung von Seesand in einem Mörser extrahiert.

Sowohl die Eiskristalle als auch der Seesand sollten das Zerkleinern der Zellbestandteile unterstützen. Die Extraktion erfolgte zweimal mit DCM/MeOH (2/1; v/v) und einmal mit n-Hexan. Um das im Gewebe enthaltene Wasser zu entfernen, wurden die vereinigten Extrakte über wasserfreies Natriumsulfat getrocknet, im Stickstoffstrom abgedampft und anschließend zwecks Umesterung in einer definierten Menge n-Hexan aufgenommen.

Humanplasma

Die Lipide des Plasmas wurden dreimal nach FOLCH et al. (1957) extrahiert und anschließend ebenfalls über Natriumsulfat getrocknet. Die nach ihrer Vereinigung zur Trockene eingegangenen Extrakte wurden nach Aufnahme in n-Hexan zur Lipidklassenfractionierung auf eine Aminopropyl-Fettphasenkartusche (NH₂-SPE) aufgegeben. Die Elution der CE, TG sowie PL erfolgte nach Optimierung mit einer modifizierten Methode nach FRITSCHKE et al. (1998). Die im Stickstoffstrom abgedampften Lipidklassen wurden anschließend in einer definierten Menge n-Hexan aufgenommen und zur Umesterung eingesetzt.

3.1.2 LIPIDKLASSENFRAKTIONIERUNG

Der Aufbau der Lipidklassenfractionierung ist aus Abb. 3.2 ersichtlich.

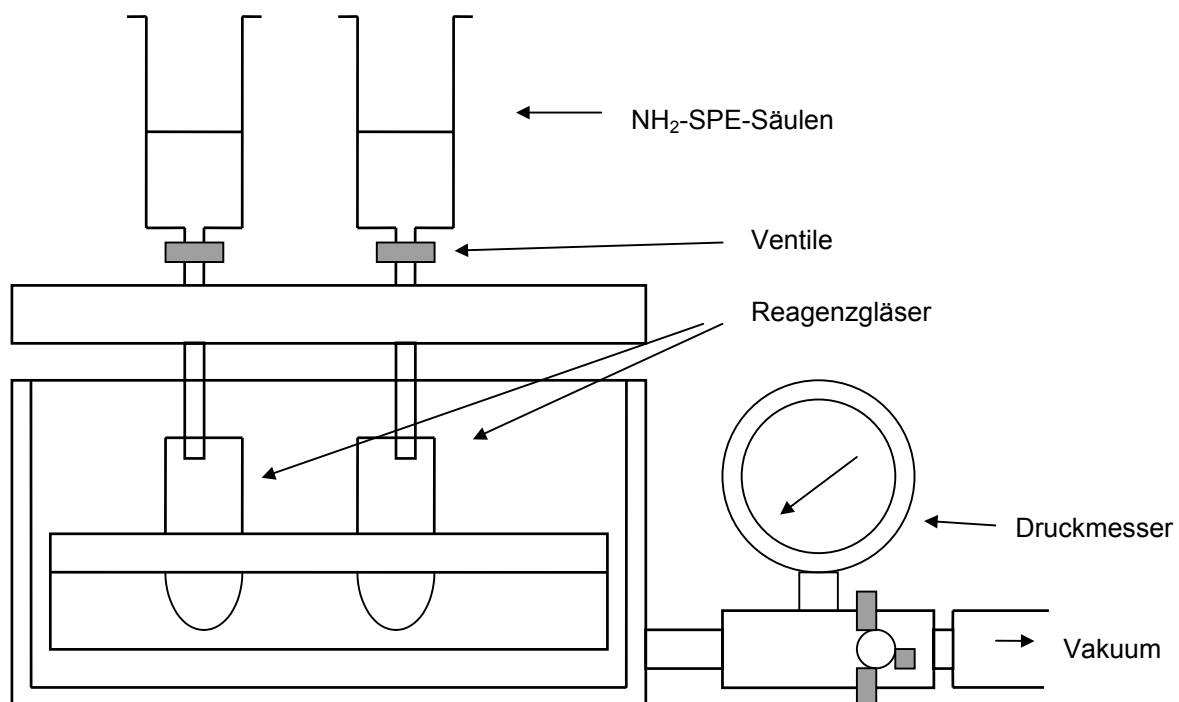


Abb. 3.2 Apparativer Aufbau der Lipidklassenfractionierung mit einer Vakuumentkammer

Zunächst wurde ein passendes Trennverfahren für die Lipidklassen überprüft (FRITSCHE et al., 1998). Sie entwickelten ein Lipidtrennverfahren mit nur einer NH_2 -SPE-Säule. In diesem Verfahren werden die CE mit 8 mL n-Hexan/Chloroform (9/1; v/v), die TG mit 4 mL n-Hexan/Diethylether (1/1; v/v) und die PL mit 6 mL MeOH eluiert. Die dort genannten Bedingungen konnten jedoch nicht erfolgreich angewendet werden. Aus diesem Grund wurde das Verfahren hinsichtlich der SPE-Kartusche, der Menge und der Zusammensetzung der Elutionsmittel anhand von Plasma optimiert. Die entwickelte bzw. optimierte Methode ist in Anhang 6.9 dargestellt.

3.1.3 METHYLIERUNGSREAKTIONEN

CHIN et al. (1992) und KRAMER et al. (1997), später auch PARK et al. (2001) diskutierten den Einfluss verschiedener Umesterungsmethoden auf das Isomerenverhältnis der CLA. Da sauer katalysierte Umesterungsmethoden und hohe Reaktionstemperaturen eine Isomerisierung der c/t-Isomere zu t,t-Isomeren bewirkten und zudem die Bildung von Methoxyartefakten begünstigten, wurde generell eine schwach alkalische, mildere Umesterungsmethode ausgewählt, die bereits bei Raumtemperatur bzw. leichter Erwärmung abläuft. Die basische Umesterung der CE wurde aufgrund ihrer Reaktionsträgheit (CHRISTIE, 1982) optimiert.

Die Veresterung freier Fettsäuren erfolgt üblicherweise mit Diazomethan bzw. Trimethylsilyldiazomethan (TMS-diazomethan) oder BF_3/MeOH . Nach KRAMER et al. (1997) zeigte die Veresterung mit Diazomethan die besten Ergebnisse hinsichtlich der Vermeidung möglicher Isomerisierungen. Die Reaktion erfolgt schonend bei Raumtemperatur. Die sauer-katalysierte BF_3/MeOH Methode wird dagegen bei 100 °C durchgeführt. Da Diazomethan sehr giftig und zudem instabil ist, wurde für die Veresterung der CLA-Einzelisomere zunächst BF_3/MeOH verwendet. Aufgrund der beschriebenen Isomerisierungen, wurde dann TMS-diazomethan verwendet (s. Anhang 6.10.1).

Umesterung

Als Grundlage diente eine Methode von PFALZGRAF (1995). Die Umesterung erfolgte mit methanolischer Kaliummethylatlösung. Es wurde mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert und die FSME mit n-Hexan extrahiert (s. Anhang 6.10.1). Die Umesterung der fraktionierten CE der Humanplasmaproben wurden nach der Methode von PFALZGRAF (1995) zunächst optimiert. Die Reaktionszeit wurde in der vorliegenden Arbeit von 15 Minuten auf 30 Minuten verlängert. Die Temperatur musste auf 80 °C erhöht werden, was sich aber nach dünnschichtchromatographischer Absicherung nicht negativ auf die Konfiguration auswirkte.

Veresterung mittels methanolischer BF_3 -Lösung

Die in n-Hexan gelösten freien CLA wurden im Stickstoffstrom bis zur Trockene eingengt und mit methanolischer BF_3 -Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde fünf Minuten auf 70 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die entstandenen FSME mit einer gesättigten Natriumchloridlösung und n-Hexan versetzt, geschüttelt und bis zur Phasentrennung zentrifugiert (AOCS, 1990). Die genaue Durchführung ist unter 6.10.1 beschrieben.

Veresterung mittels TMS-diazomethan

Diese im Gegensatz zur Veresterung mit Diazomethan weitestgehend vereinfachte Methode stellte das erforderlich Diazomethan *in situ* dar und ist deutlich einfacher zu handhaben (CHRISTIE 1989; KRAMER et al., 1997). Ein Aliquot dieser Lösung wird mit den in n-Hexan/MeOH gelösten freien Fettsäuren versetzt und 40 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Zur Entfernung des restlichen TMS-diazomethans wird anschließend mit Eisessig angesäuert. Hierbei entweicht unter Sprudeln Stickstoff. Zur besseren Phasentrennung wird anschließend n-Hexan und dest. Wasser zugefügt und zentrifugiert. Die Hexanphase wird über wasserfreies Natriumsulfat filtriert und unter Stickstoff bis zur Trockene eingengt. Die FSME werden in einer bestimmten Menge n-Hexan aufgenommen. Eine genaue Beschreibung der Veresterung mittels TMS-diazomethan befindet sich im Anhang unter 6.10.1.

3.1.4 DERIVATISIERUNG ZU 4,4-DIMETHYLOXAZOLINEN (DMOX)

Mit Hilfe der GC-MS kann die Struktur von ungesättigten Fettsäuren bestimmt werden. Da sich jedoch die Struktur der FSME durch Wanderung der Doppelbindungen während der Fragmentierung verändert (MARX und CLASSEN, 1994), ist keine Aussage über die Position der Doppelbindungen möglich. ZHANG et al. (1988) haben für eine eindeutige Zuordnung der Doppelbindungen die Fettsäuren zu DMOX derivatisiert. Das Moleküllion der C18:2 Fettsäuren kann durch das Fragmention (m/z) 333 identifiziert werden. Die fragmentierten DMOX-Derivate zeigen ein eindeutiges Ionenserienmuster. Sie weisen charakteristische Fragmente bei den Signalen m/z 113 (McLafferty-Umlagerung) und m/z 126 (kombinierte Cyclisierungs-Eliminierungsreaktion) auf (ZHANG et al., 1988). Es folgt eine geradzahlige Ionenserie m/z 126 + 14n ($n = 1-7$, Anzahl der Methylengruppen), die mit der ungeradzahligen Masse 15 abgeschlossen wird. An den Positionen der Doppelbindungen werden die regelmäßigen Ionenserien bei den Signalen m/z 126 + 14n durch Massenintervalle von 12 unterbrochen. Die Massenspektren zeigen zusätzlich sehr intensive Massenfragmente, die zwischen der allylständigen Methylengruppe und dem C-Atom nach der Doppelbindung entstehen ($m/z + 2n$ und $m/z + 3n$).

Die Darstellung der DMOX-Derivate erfolgte nach einer modifizierten Methode von FAY und RICHLI (1991). Die FSME wurden durch Zugabe von 2-Amino-2-Methylpropanol (AMP) derivatisiert (s. Abb.3.3). Die genaue Beschreibung findet sich im Anhang 6.10.2.

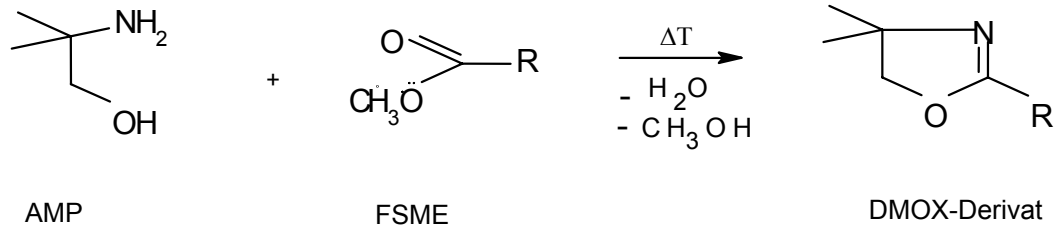


Abb. 3.3 Kondensation von AMP und FSME zu DMOX-Derivaten

3.1.5 PARTIELLE HYDRAZINREDUKTION

Die geometrische Anordnung der Doppelbindungen von mehrfach ungesättigten Fettsäuren kann durch die Bestimmung der Produkte einer partiellen Reduktion mittels Hydrazin bestimmt werden (PARODI, 1977). Einige Autoren haben diese Methode bereits zur Strukturaufklärung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren eingesetzt (BERDEAUX et al., 1998; LAVILLONNIERE et al., 1998a). Da die Reaktionsbedingungen der Methode je nach Autor variieren, wurde sie zunächst an kommerziell erworbenen CLA-Einzelisomeren (s. 2.1) optimiert. Alle Methoden wurden als Doppelbestimmung durchgeführt. Zunächst wurde die Methode von LAVILLONNIERE et al. (1998a) hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit überprüft. Dazu wurde die freie Fettsäure des c9,t11-CLA-Standards in Ethanol gelöst und mit einer Hydrazinhydratlösung versetzt. Als interner Standard wurde Heptadecansäure-ME hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde bei 45 °C und unter konstanter Sauerstoffzufuhr über sechs Stunden gerührt. In halbstündigen Intervallen wurden 5,0 mL Aliquote abgenommen. Die Reaktion wurde durch Zugabe von methanolischer Salzsäurelösung beendet (modifiziert nach CHRISTIE, 1989).

Anschließend wurde die Probe mehrmals mit n-Hexan extrahiert (s. 6.11) und die Fettsäure mit Diazomethan verestert (s. 3.1.3). Da die Reduktion nach erfolgter Fraktionierung der CLA-ME mittels Ag⁺-HPLC erfolgen sollte, wurde die beschriebene Methode auf den ME von c9,t11-C18:2 appliziert. Die optimierte Methode ist im Anhang 6.11 beschrieben. Die Reduktionsmethode wurde anschließend auf die aus der Lebensmittelprobe stammenden und fraktionierten CLA-Isomeren angewendet.

3.1.6 CHROMATOGRAPHISCHE ANALYSENMETHODEN

Gaschromatographie-Flammenionisationsdetektion (GC-FID)

In der Fettanalytik finden vorwiegend gaschromatographische Trennmethode Anwendung. Auf hoch polaren Kapillarsäulen, die mit einem 100 %igen Cyanopropylsiloxan-Trägerfilm belegt sind (z.B. SP-2560, CP-SIL88), können FSME nach ihrer Kettenlänge und nach der Anzahl ihrer Doppelbindungen getrennt werden. Die Trennung der CLA-Isomere sowie der C18:1-Isomere erfolgte in der vorliegenden Arbeit auf einer 100 m CP-SIL88 Säule. Als Detektor wurde ein FID eingesetzt, der in der Fettanalytik sowohl für die qualitative als auch für die quantitative Bestimmung als besonders geeignet gilt (FIRESTONE und MOSSOBA, 1997). Die mit Hydrazin reduzierten Proben wurden mit einem für FSME geeigneten Temperaturprogramm nach ARO et al. (1998) untersucht. Mit dieser Methode konnte sowohl der interessierende CLA-Gehalt als auch der notwendige C18:1-Gehalt bestimmt werden. Die Identifizierung erfolgte durch den Vergleich der Retentionszeiten mit verschiedenen externen Standardlösungen (s. 6.1) und durch Dotierung.

Die einzelnen FSME der Proben wurden als relative prozentuale Anteile am GesamtFSME-Muster berechnet. Die GC-Parameter finden sich unter 6.12.

Gaschromatographie-Massenspektrometrie und Fourier-Transform-Infrarotspektrometrie (GC-MS und GC-FTIR)

Die Position der Doppelbindungen wird mittels GC-MS bestimmt. FSME zeigen dabei im Massenspektrum keine signifikanten Fragmente aufgrund der Migration der Doppelbindung entlang der Kohlenstoffkette (ZHANG et al., 1988). Mit den DMOX-Derivaten (FAY und RICHLI, 1991; SPITZER, 1997) oder Methyltriazolindion-Addukten (DOBSON, 1998) der Fettsäuren wurden jedoch typische Fragmente erhalten, die eine eindeutige Lokalisierung der C-C-Doppelbindungsposition ermöglichen (SPITZER, 1997).

Neben der Massenspektrometrie findet zur Ermittlung der Doppelbindungskonfiguration (cis,cis; cis,trans; trans,cis; trans,trans) die Infrarotspektroskopie Anwendung. Mit dieser Technik ist jedoch die Unterscheidung cis,trans und trans,cis nicht möglich. Nach Kopplung eines FTIR an den GC wird das Eluat entweder durch eine Light Pipe geführt (GC-FTIR) (LAVILLIONNIÈRE et al., 1998a), auf eine rotierende Goldscheibe (GC-MI-FTIR) (MOSSOBA et al., 1989) oder auf eine Goldfolie aufgedampft (GC-DD-FTIR) (FRITSCHKE et al., 1997). Der Vorteil des Aufdampfens liegt in der niedrigeren Nachweisgrenze sowie im geringeren Signal/Rausch-Verhältnis der untersuchten Festphasenspektren. Die zur Untersuchung vorliegenden angereicherten und fraktionierten CLA-Isomere wurden nach Überführung in ihre DMOX-Derivate mittels GC-MS untersucht. Die GC-FTIR Analyse erfolgte nach Durchgang durch eine Light Pipe. Die Untersuchungsparameter finden sich im Anhang unter 6.12.

Silberionen-Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (Ag⁺-HPLC)

CHRISTIE beschrieb 1987 eine silberionenbeladene HPLC-Säule für die Analytik von mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Die Silberionen sind über Ionenbindungen mit den an die Kieselgelmatrix gebundenen Phenylsulfonsäuregruppen verbunden. Mit dieser Säule war eine sehr gute und vor allem reproduzierbare Trennung durch die Bildung von reversiblen π -Komplexen von geometrischen und Positionsisomeren mehrfach ungesättigter Fettsäuren möglich (CHRISTIE und BRECKENBRIDGE, 1989). Die Untersuchungsparameter wie z.B. die verwendeten Elutionsmittel oder die Auswahl des Detektors variieren jedoch erheblich bei den verschiedenen Autoren (NIKOLOVA-DAMYANOVA et al., 1995; SEHAT et al., 1998). Der Einsatz eines UV-Detektors erwies sich als sinnvoll, da konjugierte Systeme bereits bei einer Wellenlänge von 234 nm empfindlich detektiert und somit nicht von den unkonjugierten Fettsäuren, die bei 206 nm detektiert werden, überlagert werden. Zunächst wurde die Methode von SEHAT et al. (1998) appliziert und anschließend hinsichtlich Temperatur, Eluent, Fließgeschwindigkeit und Säulenanzahl variiert. Die Methodenbeschreibung findet sich unter 6.13. Die mit Hilfe der Referenzsubstanzen durchgeführte Kalibrierung findet sich im Anhang unter 6.14.1.

Zur Trennung der cis- und trans-C18:1-Isomere, die nach der partiellen Hydrazinreduktion entstehen (s. Kap. 3.1.5), wurde eine Methode von ADLOF et al. (1995) herangezogen, um eine evtl. Überlagerung dieser Isomere bei der nachfolgenden GC-FID Untersuchung zu verhindern (s. Anhang 6.13).

3.2 Eicosanoidanalytik

Die in der Literatur beschriebenen Methoden erfassten entweder nur einzelne Eicosanoide (Assay-Methoden) oder die Aufarbeitung des Probenmaterials sowie die Derivatisierung der Substanzen führte zu hohen Verlusten des Analyten. Es wurde deshalb eine Methode zur Bestimmung ausgewählter Eicosanoide, insbesondere PGE₂, mittels HPLC-MS sowie deren Aufreinigung entwickelt. Die für die quantitative Bestimmung notwendige Aufarbeitung der Proben erfolgte nach dem Schema in Abb. 3.4.

Die Proben wurden nach dem Homogenisieren im alkalischen Milieu entfettet und anschließend mit Chloroform im schwach sauren pH-Bereich extrahiert. Zur Aufreinigung wurde der Extrakt über eine Amberlite XAD 2 Säule gegeben (s. Anhang 6.7 und 6.8).

Durch Fraktionierung wurde das Elutionsverhalten der Eicosanoide flüssigchromatographisch überprüft. Die PG und TXB₂ enthaltenen Elutionsfraktionen wurden mittels HPLC untersucht, wobei verschiedene Elutionssysteme und HPLC-Säulen getestet wurden.

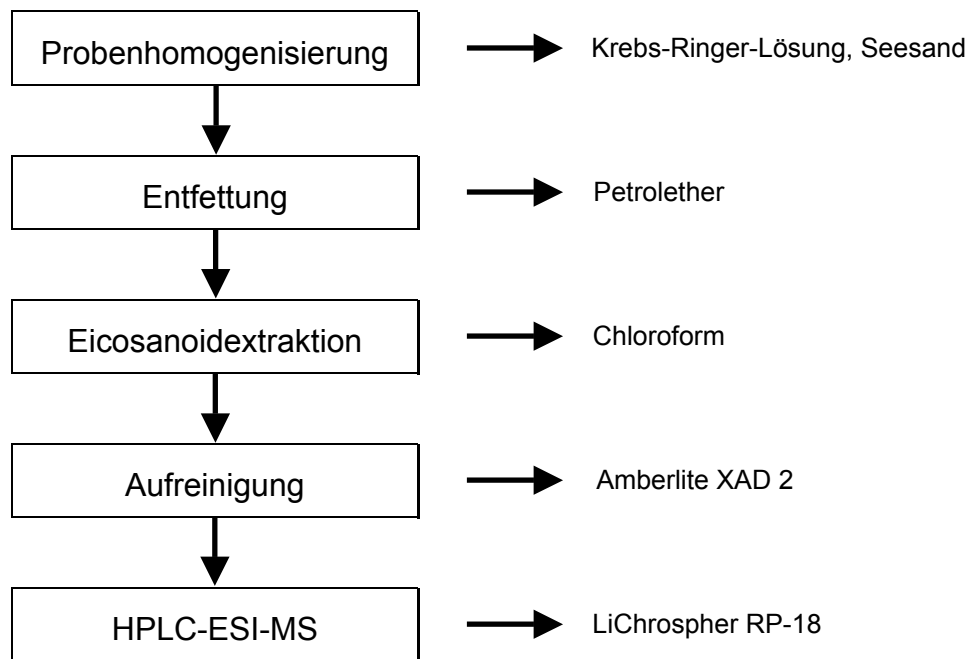


Abb. 3.4 Aufarbeitungsschema zur Eicosanoid-Bestimmung

3.2.1 EICOSANOIDEXTRAKTION

Die entwickelte Extraktionsmethode für Eicosanoide aus normalem und verändertem Humangewebe (s. 3.1.2) sollte neben den freien auch die Eicosanoide erfassen, die chemisch oder absorptiv in den Zellen gebunden vorliegen. Gleichzeitig musste darauf geachtet werden, dass die zu untersuchenden Substanzen bei der Aufarbeitung nicht oxidierten. Weiterhin wurde auf eine möglichst vollständige Entfettung geachtet, da Lipide die spätere Bestimmung stören.

In der Literatur sind Extraktionsmethoden aus Plasma (ROSENFELD et al., 1991; NOUROOZ-ZADEH, 1999) und Urin (WEBER und HÖLLER, 1991; FERRETTI und FLANAGAN, 1997) sowie aus Gehirn- und Lungengewebe (MORROW und ROBERTS, 1994) beschrieben. Da die verwendeten Matrices deutlich weniger komplex sind als die zu untersuchenden Tumor- und Fettgewebe, wurden die Eicosanoide meist ohne großen Aufwand mit Lösungsmitteln (hierzu dienten Aceton, Chloroform, DCM, sowie Ethylacetat oder Mischungen dieser Lösungsmittel) extrahiert.

WATSON et al. (1984), BAUKNECHT et al. (1985) sowie BENNETT et al. (1987) beschrieben die Extraktion aus menschlichem normalem und verändertem Gewebe. Hier wurde das Humangewebe zur Extraktion in Krebs-Ringer-Lösung gewaschen und in kleine Stücke geschnitten (BENNETT et al., 1987). Die Zerkleinerung erfolgte bei BENNETT et al. (1987) mit einem Silverson Homogenisator.

Da jedoch nur sehr geringe Gewebeprobemengen vorhanden waren und Homogenisierungsverluste verhindert werden sollten, wurden die Gewebeproben in flüssigem Stickstoff gefroren (s. auch 3.1.1) und sofort anschließend in Krebs-Ringer-Lösung (pH 8-9) mit Seesand bis zu einer breiigen Konsistenz zermörsert. So verbleiben die oxidationsanfälligen Eicosanoide in Lösung. Die PG wurden direkt nach dem Homogenisieren mit Chloroform extrahiert. Da jedoch auch Lipide durch Chloroform aus dem Gewebe extrahiert werden, wurden diese zunächst mittels Petrolether entfernt. Bei dem herrschenden alkalischen pH-Wert verblieben die PG und das TX in Form gelöster Salze im wässrigen Milieu der Krebs-Ringer-Lösung. Anschließend wurden die zu analysierenden Substanzen nach Ansäuern mit Ameisensäure (pH 3-3,5) mittels Chloroform als undissoziierte Säuren extrahiert. GOSWAMI et al. (1981) erzielten bei diesem pH-Wert die höchste Extraktionsmenge. Bei niedrigeren pH-Werten kann eine Umsetzung von PGE_2 zu PGA_2 durch Dehydrierung stattfinden (GOSWAMI et al., 1981), während bei höherem pH-Wert die Eicosanoide eventuell nicht vollständig als undissoziierte Säure vorliegen, was die Extraktion aus der wässrigen Lösung mit Chloroform verhindern würde. Zur Abtrennung des Seesandes und anderer Gewebekomponenten war eine anschließende Zentrifugation notwendig, da Filtern wegen eines Verschließens der Filterporen nicht möglich war. Die genaue Beschreibung der entwickelten Eicosanoidextraktion befindet sich im Anhang 6.7.

3.2.2 AUFREINIGUNG DES EICOSANOIDEXTRAKTES

Für die Aufreinigung nach der Extraktion sind in der Literatur grundsätzlich drei verschiedene Methoden genannt. MÜLLER et al. (1981) beschrieben mehrere Methoden zur Aufreinigung über HPLC oder Dünnschichtchromatographie (thin-layer chromatography, TLC). In der neueren Literatur wird vor allem die Aufreinigung über Minikartuschen wie z.B. C_{18} Sep-Pak (FERRETI und FLANAGAN, 1997) genannt. ROSENFELD (1999) berichtete über verschiedene SPE-Phasen, wobei das Amberlite XAD 2 Material die besten Ergebnisse lieferte. Aus diesem Grund wurde dieses für die Aufreinigung gewählt.

Um Wasserfreiheit für das Abgasen unter einem Stickstoffstrom bei 40°C zu gewährleisten, wird der erhaltene Chloroformextrakt über Natriumsulfat filtriert, da es sonst zu Siedeverzügen kommen kann. Der Rückstand wird in mit Salzsäure auf pH-Wert 3-4 eingestelltem, bidestilliertem Wasser aufgenommen und auf eine Amberlite XAD 2-Säule gegeben. Dabei handelt es sich um ein quervernetztes Styrol-Divinylbenzol Copolymer, welches mit den Eicosanoiden unspezifische Wechselwirkungen eingeht. Die große Oberfläche und hohe Adsorption ermöglicht eine sehr gute Bindung über hydrophile Wechselwirkungen mit der Carboxylgruppe, die besser funktioniert als ein Ionenaustauschermechanismus (ROSENFELD, 1999). Durch Regeneration lassen sich die XAD-Phasen beliebig oft wiederverwenden.

Nachteile dieser Methode sind die zeitaufwendige Reaktivierung der Säule, um die Reinigungsleistung für die nächsten Proben zu gewährleisten, sowie die Überprüfung der Fraktionen auf vollständige Elution für jede neu gepackte Säule. Letzteres trifft jedoch auch bei Chargenwechsel von fertig gepackten SPE-Kartuschen (Octadecylsilica-Phasen) zu (TSIKAS, 1998). Mit angesäuertem Wasser wird gewaschen und dadurch polare Verunreinigungen entfernt. In den etablierten Aufreinigungsmethoden werden die Eicosanoide mit MeOH bzw. einem Gemisch aus MeOH und Ethylacetat von der Säule eluiert. Zur Elution von der XAD 2-Säule wurde nur MeOH verwendet (ROSENFELD, 1999), so dass auch für die entwickelte Methode MeOH als Elutionsmittel diene. Eine komplizierte Probenvorbereitung, wie Fraktionensammeln mittels HPLC oder TLC (DANIEL et al., 1994; NOUROOZ-ZADEH et al., 1995) und/oder SPE (ROSENFELD, 1999) entfällt.

Zur Überprüfung der Elutionseigenschaften und zur Bestimmung der Wiederfindungsrate wurde ein menschliches Fettgewebe, dem PGE₂-d₄ als interner Standard zugesetzt wurde, wie oben beschrieben aufgearbeitet. Das eluierende MeOH wurde in mehreren Fraktionen in 5 mL Schritten bis zu einem Gesamtvolumen von 30 mL MeOH aufgefangen und diese einzeln auf ihren Eicosanoid-Gehalt überprüft. Das MeOH wurde durch Abgasen mit Stickstoff bei 40 °C entfernt und die Eicosanoide im Elutionsmittel für die HPLC aufgenommen. Bis zur Messung werden die Lösungen bei -18°C gelagert. Eine ausführliche Darstellung der Aufreinigung der Eicosanoide befindet sich im Anhang unter 6.8.

3.2.3 ANALYSENMETHODEN

Für die Analytik der Eicosanoide werden neben gaschromatographischen Methoden (GC-MS-NCI) (z.B. HUBBARD et al., 1996; TSIKAS, 1998) vor allem enzymimmunologische Methoden genannt. Wenige Quellen finden sich zu flüssigchromatographischen Trennungen von Eicosanoiden (HOI DO et al. 1994; POWELL et al. 1997; TSIKAS, 1998). Die Autoren verwendeten saure, wässrige, acetonitrilhaltige Systeme (CORDIS und DAS, 1991; POWELL et al., 1997), jedoch oft mit deutlich unterschiedlichen Zusammensetzungen und Gradientensystemen (NEWBY und MALLETT, 1997). Zum Teil wurden auch MeOH-haltige Eluenten verwendet (HOI DO et al., 1994).

Enzymimmunologische Verfahren haben den Nachteil, dass sie nur einzelne Eicosanoide erfassen und gleichzeitig nicht 100 % selektiv arbeiten. Der Nachteil gaschromatographischer Untersuchungen liegt darin, dass Eicosanoide flüchtig und die Derivate thermostabil sein müssen. Eine Derivatisierung, wie z.B. mit Pentafluorbenzylbromid und Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (WÜBERT et al., 1997; NOUROOZ-ZADEH, 1999) oder mit Dimethylsulfoxid bzw. Dimethylacetamid und Alkylhalogeniden, z.B. Methyljodid (CIUCANU et al., 1988) bedingt zudem Verluste des Analyten.

Da jedoch die vier genannten Eicosanoide gleichzeitig bestimmt werden sollten und aufgrund der verwendeten Matrix Verluste des Analyten minimiert werden sollten, wurde auf eine HPLC-Methode mit massenspektrometrischer Detektion zurückgegriffen. Zunächst wurden verschiedene Eluenten und mehrere HPLC-Säulen mittels UV-Detektion getestet und modifiziert. Dabei konnte ein Elutionssystem entwickelt werden, mit dem eine Trennung aller untersuchter PG in angemessener Zeit erreicht werden konnte. Um die Nachweisgrenze zu verbessern und somit für die Analyse von Humangewebe brauchbar zu machen, wurde das System zur Bestimmung der Eicosanoide auf die HPLC-ESI-MS mit positiver Ionisation übertragen.

Hochleistungsflüssigchromatographie (UV-Detektion)

In der Literatur sind flüssigchromatographische Methoden zur Eicosanoid-Bestimmung genannt, deren Trennleistungen aber zumeist als unbefriedigend angesehen werden müssen. Nur POWELL et al. (1997) konnten eine Trennung von $\text{PGF}_{2\alpha}$, 15-oxo- $\text{PGF}_{2\alpha}$ und PGE_2 erzielen. Daher wurde diese Methode modifiziert und als Grundlage für die Methodenentwicklung zur Bestimmung der Eicosanoide gewählt. Die in der Literatur genannte RP-Säule war nicht verfügbar. Zur Optimierung der Methode wurden verschiedene RP-18-Säulen (Nucleosil, Multospher, LiChrospher) mit unterschiedlichen acetonitril-haltigen Laufmittel-Systemen geprüft. Die Autoren verwendeten zusätzlich Essigsäure als Puffersubstanz. Dieses wurde in dem Laufmittel durch Trifluoressigsäure (TFAc) ersetzt, da diese eine bessere UV-Durchlässigkeit im verwendeten Messwellenlängenbereich aufweist.

Desweiteren wurde der Temperatureinfluß auf die Trennleistung bei einer Säulentemperatur von 18°, 20°, 25° und 30 °C getestet. Nachteile dieser Methode sind aber die geringe Selektivität der Messung bei einer Wellenlänge von 200 nm und die niedrige Empfindlichkeit. Mit dieser Methode wurden Nachweisgrenzen im oberen ng Bereich ermittelt (HOI DO et al., 1994). Eine höhere Selektivität und Empfindlichkeit kann durch die Detektion mit einem MS erreicht werden. Die HPLC-MS-Bestimmungsmethode ist aber für die PG-Analytik noch nicht etabliert, weshalb nur wenige Methoden in der Literatur beschrieben sind. NEWBY und MALLET (1997) beschreiben eine negative ESI-MS, ABIAN und GELPI (1997) eine Thermospray Ionisation (TSP) zur Bestimmung von Eicosanoiden des Lipoxigenasestoffwechsels. NEWBY und MALLET (1997) untersuchten in ihrer Studie Zellkulturen von aus der menschlichen Haut isolierten Fibroblasten, während ABIAN und GELPI (1997) menschliche Samenflüssigkeit jeweils nach einfacher Extraktion mittels Aceton untersuchten. Da durch Oxidation und bei dem Derivatisierungsschritt mit erheblichen Verlusten bei der Eicosanoid-Bestimmung mittels GC zu rechnen ist und für LT bereits gute Ergebnisse mittels HPLC-MS erzielt werden konnten (ABIAN und GELPI, 1997), wurde die Entwicklung einer HPLC-MS-Methode bevorzugt.

Hochleistungsflüssigchromatographie-Massenspektrometrie (HPLC-ESI-MS)

Zur Verbesserung der Empfindlichkeit wurde im SIM-Modus (Selected-Ion-Monitoring) gearbeitet, was Nachweisgrenzen bis in den pg-Bereich ermöglicht. Zunächst mussten deshalb geeignete Fragmente ermittelt werden. Zur Ermittlung der optimalen Fragmentorspannung und der entstehenden Fragmente, wurden die genannten Eicosanoidstandards mittels Flow-Injection-Analysis (FIA) untersucht. Dabei wurde die Standardlösung, ohne die Säule zu durchlaufen, mehrmals direkt in den Massendetektor versprüht und mit jeweils unterschiedlichen Spannungen fragmentiert. Die Identifizierung der Eicosanoide im Gewebe erfolgte über den Vergleich der Retentionszeiten (Rt) mit denen der Standards und über die Massenspektren. Die Quantifizierung erfolgte sowohl über einen internen, als auch über einen externen Standard. Hierzu wurden für Fett- und Tumorgewebe jeweils ein Mischstandard mit in der Literatur (BENNETT et al., 1987) genannten Konzentrationen für Muskel- und Tumorgewebe und ein vierfach deuterierter, interner PGE₂-Standard in entsprechender Konzentration verwendet. Für die gesamte Methode wurde eine Wiederfindungsrate von 102 % bestimmt. Es waren keine störenden Substanzen in den Chromatogrammen der Gewebe nachweisbar (s. Anhang 6.17). Die Massenspektren befinden sich im Anhang unter 6.18. Anhand dieser Massenspektren wurden geeignete Massenfragmente hinsichtlich ihrer Verwendung zur Quantifizierung im SIM-Modus ausgewählt. Diese ausgewählten Hauptfragmente, die Nachweisgrenzen sowie die Methodenkalibrierung befindet sich im Anhang unter 6.14.2. Die HPLC Parameter finden sich im Anhang 6.13.

3.3 Statistische Methoden

Alle Messwerte unterliegen Schwankungen, die entweder durch die verwendeten analytischen Methoden oder das Untersuchungsmaterial verursacht werden. Da die Analysemethoden hinsichtlich der Reproduzierbarkeit, Linearität, Wiederfindung und Empfindlichkeit geprüft wurden, und die Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen größer als die analytisch bedingte Abweichung ist, erschien eine einfache Aufarbeitung der jeweiligen Probe als ausreichend. Für die Untersuchung des FSME-Musters der Mamma- und Ovargewebe sowie der Plasmaproben stand für eine zweite Aufarbeitung zudem nicht genügend Probenmaterial zur Verfügung. Nur die Untersuchung des Eicosanoidgehaltes in Geweben wurde in einer Doppelbestimmung durchgeführt. Die Darstellung der Ergebnisse zeigt jeweils die aus den Einzeluntersuchungen erhaltenen Mittelwerte der jeweiligen Untersuchungsgruppe mit der erhaltenen Standardabweichung, wobei aufgrund der Datenfülle auf eine Einzeldarstellung im Anhang verzichtet wurde. Jedoch zeigen aufgrund der starken Schwankungen zwischen den Untersuchungsmaterialien die Ergebnisse der FSME-Bestimmung der Plasmaproben die Ergebnisse der einzelnen Probanden. Signifikante Unterschiede zwischen den FSME- bzw. Eicosanoidgehalten der Untersuchungsgruppen wurden mittels t-Test (über EXCEL 2000 Software) bestimmt und wurde folgendermaßen errechnet:

$$p = \frac{x_a - x_b}{s} \sqrt{n}$$

p = Wahrscheinlichkeit

x_a, x_b = Mittelwerte der zu vergleichenden Proben

s = Standardabweichung

n = Anzahl der Proben

Für eine Unterscheidung wurden folgende Signifikanzniveaus berücksichtigt:

p < 0,01	hoch signifikant (99 % Wahrscheinlichkeit)
p < 0,05	signifikant (95 % Wahrscheinlichkeit)
p > 0,05	nicht signifikant

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Identifizierung von CLA-Isomeren

Wie eingangs bereits erwähnt (s. Kap. 1) wurde in den bisherigen Arbeiten über CLA lediglich der Gehalt des Hauptisomeres (c9,t11-C18:2) bestimmt. Minorisomere in Lebensmitteln wurden von FRITSCHE et al. (2000) in Fleisch von amerikanischen Ochsen quantifiziert. Für eine konkrete Aussage hinsichtlich des oder der physiologisch aktiven Isomere(s) ist eine Bestimmung aller CLA-Isomere notwendig (s. Kap.1). Aus diesem Grund sollte für die Bestimmung von CLA-Isomeren zunächst eine Methodenoptimierung mittels Ag^+ -HPLC durchgeführt werden.

4.1.1 METHODENOPTIMIERUNG MITTELS Ag^+ -HPLC

Als Basis diente eine Methode von SEHAT et al. (1998), die eine mit Silberionen belegte Normalphasen-Säule verwendeten und eine Identifizierung von zwölf CLA-Isomeren in einem CLA-Standard erreichten. Da die Autoren jedoch einzelne Isomere nicht identifizierten, mussten zur vollständigen Bestimmung des CLA-Isomerenmusters zunächst diese Isomere identifiziert werden. Damit verbunden stellte sich die Aufgabe der Applikation und Optimierung der Methode nach SEHAT et al. (1998). Zunächst wurde zur Erzielung einer besseren Trennung der Eluent verändert. Eine Erhöhung auf 0,2 % ACN in n-Hexan bewirkte, dass die CLA früher eluierten und die Trennung einzelner Isomere deutlich schlechter wurde. Die Elutionsreihenfolge entsprach derjenigen von SEHAT et al. (1998). Die Verwendung eines Eluenten mit 0,05% ACN in n-Hexan führte zu einer Verlängerung der Elution und ebenfalls zu einer Verschlechterung der Trennung, da die Peaks sich verbreiterten. Auch durch eine Änderung der Fließgeschwindigkeit (von 0,5 – 2,0 mL/min) oder der Temperatur (1, 10, 20, 30 und 40 °C) konnte keine Verbesserung der Trennung der CLA-Isomeren erreicht werden. Eine deutliche Verbesserung der Trennleistung von CLA-Isomeren konnte erreicht werden, indem zwei analytische Silberionensäulen miteinander gekoppelt wurden (s. Abb. 4.1 - 4.3, jeweils links einfache Säule und rechts zwei Säulen in Serie).

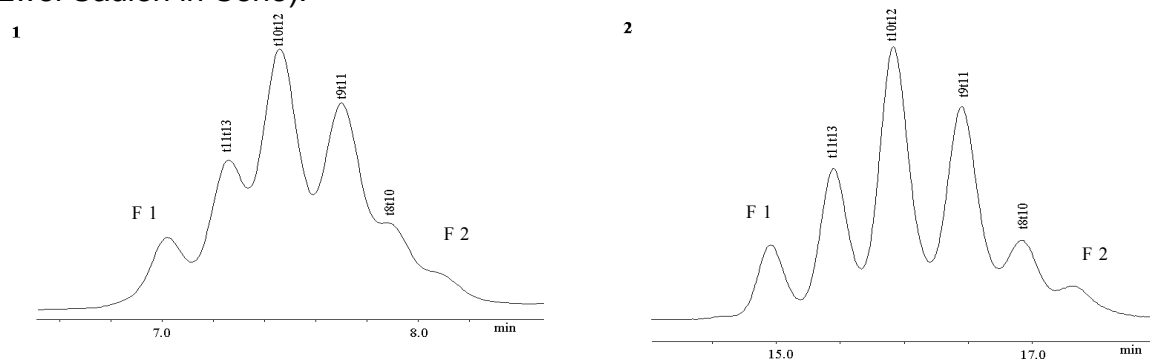


Abb. 4.1 Ag^+ -HPLC-Chromatogramm der CLA einer Standardlösung auf einfacher Säule (1) und Tandem-Säule (2) in der t,t-Gruppe

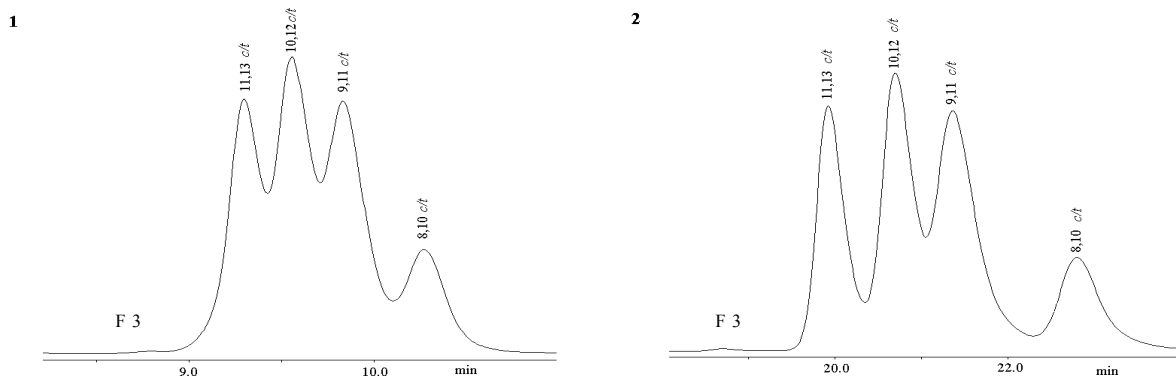


Abb. 4.2 Ag⁺-HPLC-Chromatogramm der CLA einer Standardlösung auf einfacher Säule (1) und Tandem-Säule (2) in der c/t-Gruppe

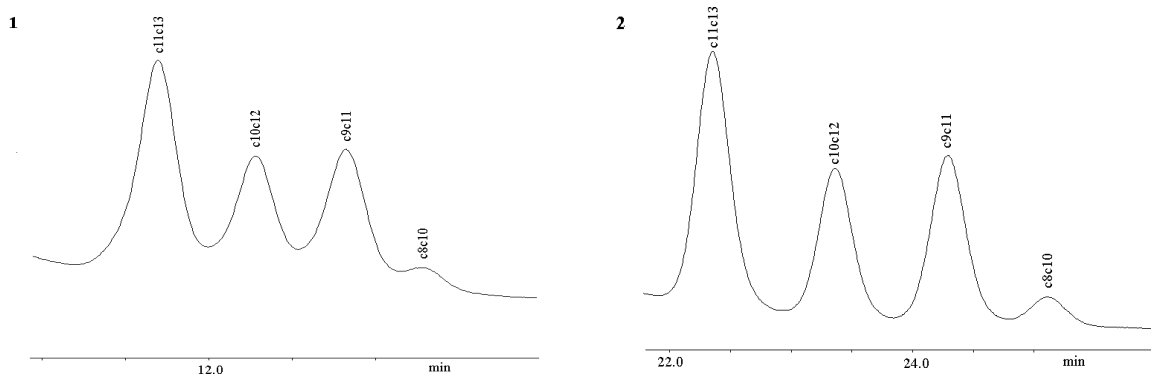


Abb. 4.3 Ag⁺-HPLC-Chromatogramm der CLA einer Standardlösung auf einfacher Säule (1) und Tandem-Säule (2) in der c/c-Gruppe

Eine deutliche Steigerung der Trennleistung wurde in Kooperation mit der Food and Drug Administration, Washington, USA, erreicht. Bei der Verwendung von bis zu sechs analytischen Silberionen-HPLC-Säulen in Serie zeigte sich nun eine Grundlinientrennung (s. Abb. 4.4).

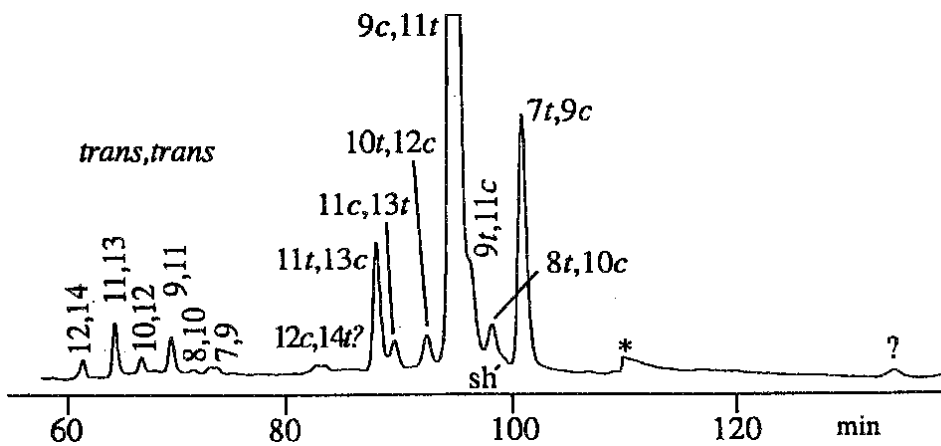


Abb. 4.4 Ag⁺-HPLC-Chromatogramm der CLA im Fett einer Rindfleischprobe (sechs Säulen in Serie)

Es ergaben sich jedoch Analysenzeiten von über zwei Stunden, die nicht mehr praxisnah waren. Als Schlussfolgerung ergab sich eine optimale Säulenkonfiguration von drei oder vier Säulen in Serie. Der mit * bezeichnete Peak wurde als cis-C18:1 identifiziert. Als Nachweisgrenze wurde der Gehalt mit einem Signal/Rauschverhältnis von 3:1, als Bestimmungsgrenze der Gehalt mit einem Signal/Rauschverhältnis von 5:1 angenommen. Die Nachweisgrenze betrug für die CLA 40 µg/L, die Bestimmungsgrenze lag bei 60 µg/L.

Mit der optimierten Methode ergab sich bei Injektion der FSME einer Rindfleischprobe (s. Abb. 4.5 - 4.6) der Hinweis auf gemischt konfigurierte 11,13-Isomere sowie ein weiteres CLA-Isomer, das nach dem t8,c10-CLA-Isomer eluierte. Zur Identifizierung, in Abb. 4.4 bereits vorweggenommen, wurden die unbekannt Peaks (s. Abb. 4.1 - 4.3; F1 - F3 und Abb. 4.5 und 4.6; F4 - F6) im Folgenden mittels semi-präparativer Ag⁺-HPLC angereichert und aufgereinigt. Die Identifizierung erfolgte anschließend mittels GC-MS und GC-FTIR. Für die Identifizierung der 11,13-Isomere der c/t-Gruppe wurde die partielle Hydrazinreduktion angewendet.

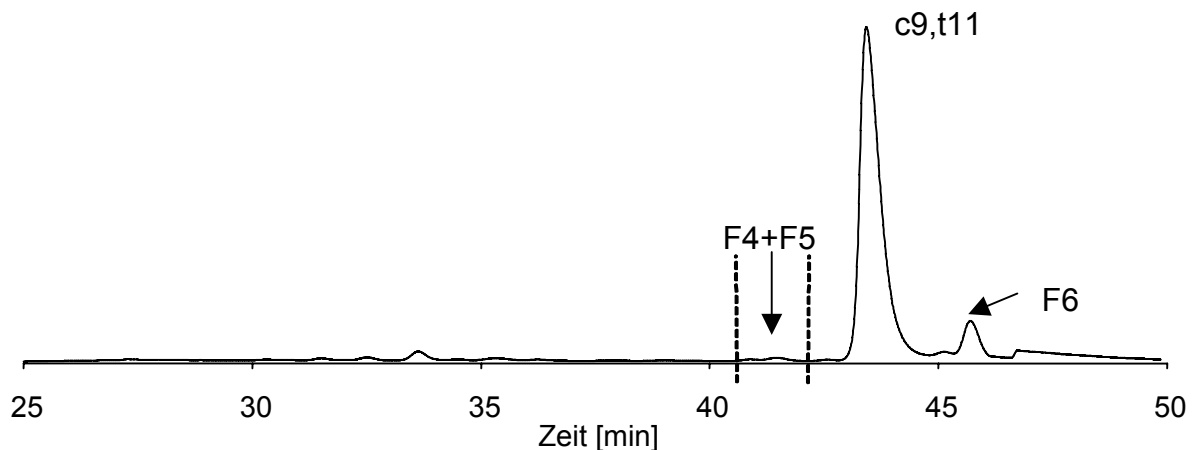


Abb. 4.5 Ag⁺-HPLC-Chromatogramm der CLA im Fett einer Rindfleischprobe

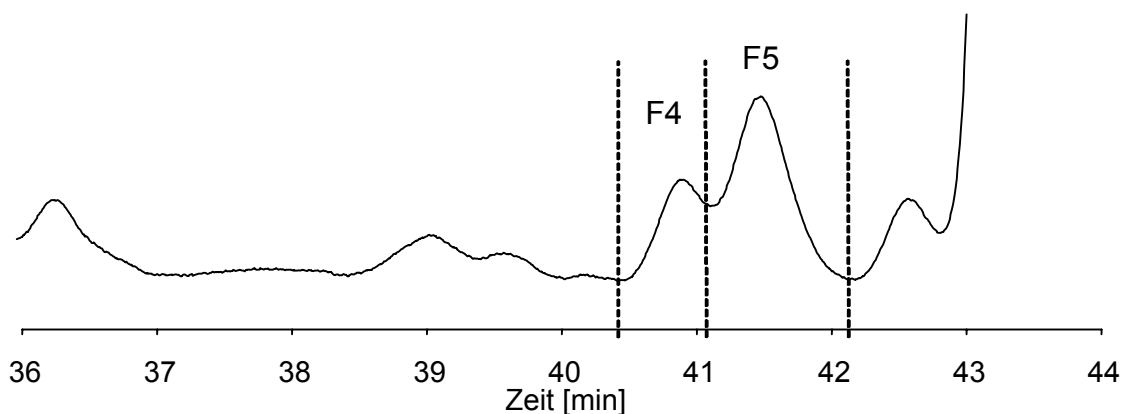


Abb. 4.6 Ausschnittvergrößerung aus Abb. 4.5

4.1.2 FRAKTIONIERUNG

Die nicht identifizierten Peaks (s. Abb. 4.1 - 4.3 und 4.5 - 4.6) sowohl im Ag^+ -HPLC-Chromatogramm des CLA-Mischstandards als auch im Ag^+ -HPLC-Chromatogramm der CLA einer untersuchten Rindfleischprobe mussten fraktioniert, gesammelt und aufkonzentriert werden, damit genügend Material für die sich anschließende GC-MS- und GC-FTIR-Analytik zur Verfügung stand. Die Fraktionierung erfolgte zunächst wegen des erhöhten Mengenbedarfs an einer semi-präparativen Ag^+ -Säule.

Die Trennung der Analyten war erwartungsgemäß auf der semipräparativen Säule schlechter als auf der analytischen Säule. Die Isomere, die aus der CLA-Standardlösung identifiziert werden sollten, wurden jedoch getrennt bzw. angetrennt. Aufgrund der deutlich schlechteren Trennung auf der semi-präparativen Ag^+ -HPLC-Säule wurden für die Trennung der 11,13-Isomere vier analytische Ag^+ -HPLC-Säulen in Serie verwendet. Weiterhin wurde aus dieser Probe das vermeintlich letzte CLA-Isomer der c/t-Gruppe fraktioniert: das 7,9-Isomer.

Die Fraktionierung des c11,t13- sowie des t11,c13-CLA-Isomers wurde aufgrund der geringen Mengen und der Verwendung von analytischen Säulen mehrmals wiederholt. Die gesammelten Fraktionen wurden jeweils vereinigt und wie die anderen Fraktionen auf ihre Reinheit mittels Ag^+ -HPLC überprüft. Die Ergebnisse sind in Tab. 4.1 dargestellt. Die erhaltenen Fraktionen wurden anschließend zur GC-MS, GC-FTIR und partiellen Hydrazinreduktion verwendet.

Tab. 4.1 Reinheitsüberprüfung der CLA-Fraktionen mittels Ag^+ -HPLC

CLA-Fraktion	Reinheit in %
F 1	99
F 2	75
F 3	99
F 4	70
F 5	83
F 6	99

Für die Fraktionen F1, F3, F5 und F6 zeigten sich sehr gute Reinheiten. Wie bereits schon aus den Abb. 4.1 und 4.6 ersichtlich ist, weisen die Isomere aus den Fraktionen F2 und F4 eine etwas schlechtere Trennung von den benachbarten Substanzen auf. Aus diesem Grund sind die mit 70 bzw. 75 % ermittelten Reinheiten geringfügig schlechter. Eine Identifizierung war dennoch möglich.

4.1.3 GC-MS

Für die GC-MS-Analysen (s. Anhang 6.12) wurden die Fraktionen in ihre DMOX-Derivate überführt (s. Kap. 3.1.4).

Anhand der GC-MS-Spektren der einzelnen Fraktionen konnten aus der t,t-Gruppe die Fraktion F1 als 12,14- und die Fraktion F2 als 7,9-Isomer identifiziert werden. In der c/t-Gruppe konnte die Fraktion F3 ebenfalls als 12,14-Isomer, die Fraktionen F4 und F5 als 11,13-Isomere und Fraktion F6 als 7,9-Isomer identifiziert werden. Die eindeutige Zuordnung erfolgte anhand der 12 m/z-Massenintervalle und der intensiven Massenfragmente der Bindungsstellen, die zur letzten Doppelbindung allylständig sind. Zusammengefasst und mit den anderen CLA-Isomeren ergänzt sind diese Fragmente in Tab. 4.2 dargestellt. Da die Fragmente unabhängig von der Konfiguration der Doppelbindungen sind, werden die Stellungen der Doppelbindungen nicht aufgeführt.

Die GC-MS-Spektren für 7,9- und 12,14-Isomere sind in Abb. 4.7 und 4.8 dargestellt. Die Fraktion F4 und F5 mit den Doppelbindungen an der Position 11 und 13 sind in Abb. 4.9 dargestellt. In den genannten Abbildungen wird jeweils nur ein Isomer gezeigt, da die entsprechend anders konfigurierten CLA-Isomere mit gleichen Doppelbindungspositionen ähnliche Massenspektren aufweisen.

Tab. 4.2 Charakteristische Massenzahlen der CLA-Isomere (als DMOX-Derivate) mit 12-m/z-Fragmenten sowie Fragmenten, die zu der letzten Doppelbindung allylständig sind

CLA-Isomer	1. m/z	2. m/z	3. m/z	4. m/z	m/z + 2n	m/z + 3n
13,15	252	264	278	290	318	332
12,14	238	250	264	276	304	318
11,13	224	236	250	262	290	304
10,12	210	222	236	248	276	290
9,11	196	208	222	234	262	276
8,10	182	194	208	220	248	262
7,9	168	180	194	206	234	248
6,8	154	166	180	192	220	234

Die CLA-Isomere der vierten und fünften Fraktion sollten ergänzend zur Bestimmung der absoluten Konfiguration nach partieller Hydrazinreduktion herangezogen werden. Da jedoch nur für F5 eine ausreichende Menge vorlag, wurde nur diese Fraktion zur partiellen Hydrazinreduktion eingesetzt (s. 4.1.5).

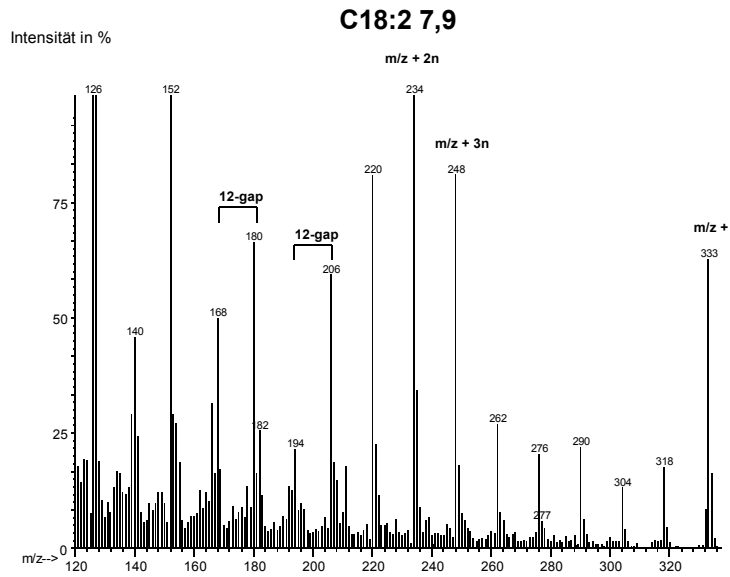


Abb. 4.7 Massenspektrum der Fraktion F2 (F6 ähnlich)

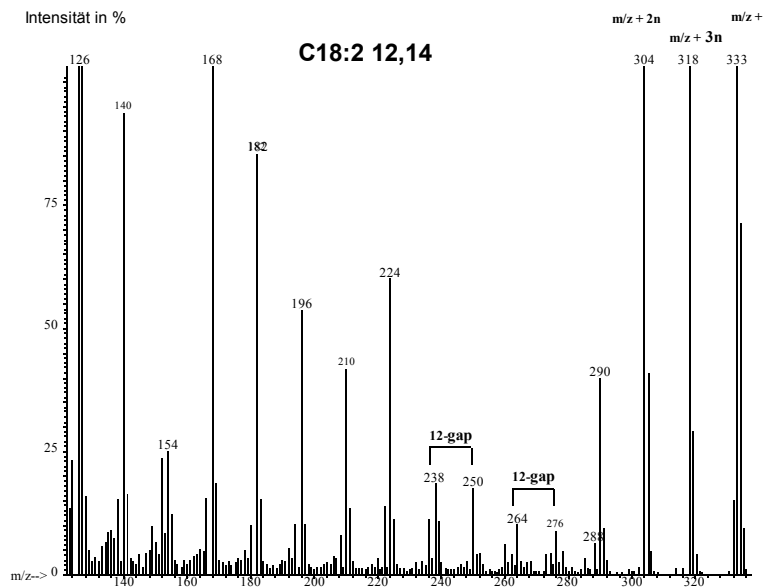


Abb. 4.8 Massenspektrum der Fraktion F1 (F3 ähnlich)

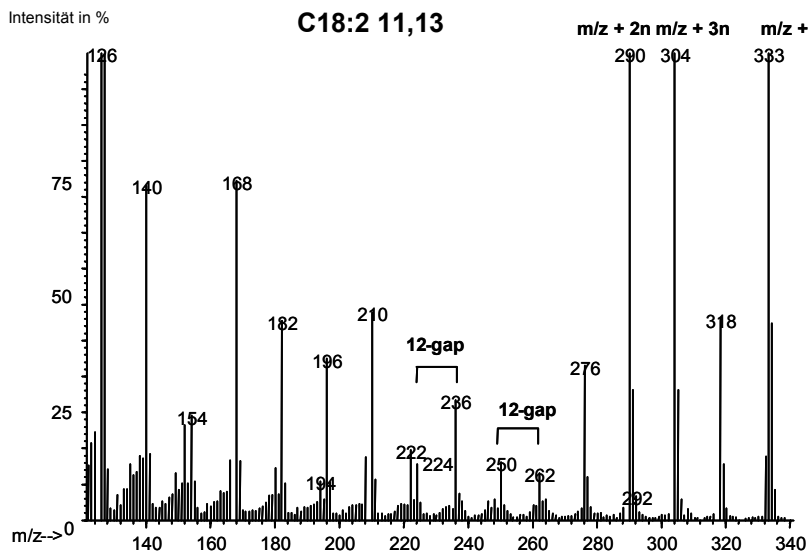


Abb. 4.9 Massenspektrum der Fraktion F4 (F5 ähnlich)

4.1.4 GC-FTIR

Für die Konfigurationsbestimmung der Positionsisomere wurde von den einzelnen Fraktionen ein FTIR-Spektrum aufgenommen. Die konjugierten trans,trans-Doppelbindungen der FSME-Derivate absorbieren nahe 990 cm^{-1} und konjugierte cis/trans-Doppelbindungen nahe 980 cm^{-1} und 950 cm^{-1} (O'CONNOR, 1956; MOSSOBA et al., 1991; LAVILLONNIÈRE et al., 1998a; SEHAT et al. 1998, 1999). Aus den Spektren ergab sich eine eindeutige Bestimmung der Konfiguration der Isomere. Sowohl eine trans,trans-Bande bei 984 cm^{-1} als auch cis/trans-Banden bei 978 cm^{-1} und 949 cm^{-1} waren vorhanden. So konnten die Fraktionen F1 und F2 als trans,trans konfiguriert und die Fraktionen F3 bis F6 als cis/trans konfiguriert identifiziert werden. Je ein Spektrum für eine trans,trans- und eine cis/trans-Konfiguration wird in Abb. 4.10 und 4.11 dargestellt. Die Identifizierung mittels FTIR liefert jedoch keine Unterscheidung einer cis,trans von einer trans,cis Bande. Für die Unterscheidung der beiden 11,13-Isomere (F4 und F5) wurde F5 zusätzlich partiell mit Hydrazin reduziert (s. 4.1.5).

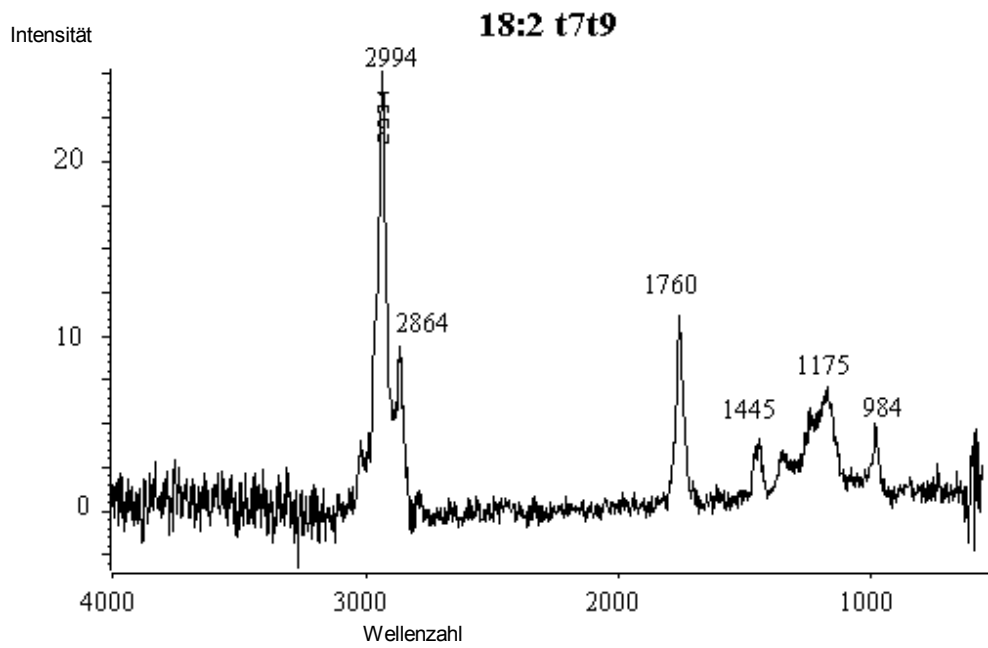


Abb. 4.10 FTIR-Spektrum einer t,t-Fraktion (C18:2 7,9; 12,14 ähnlich) mit der charakteristischen Bande bei 984 cm^{-1}

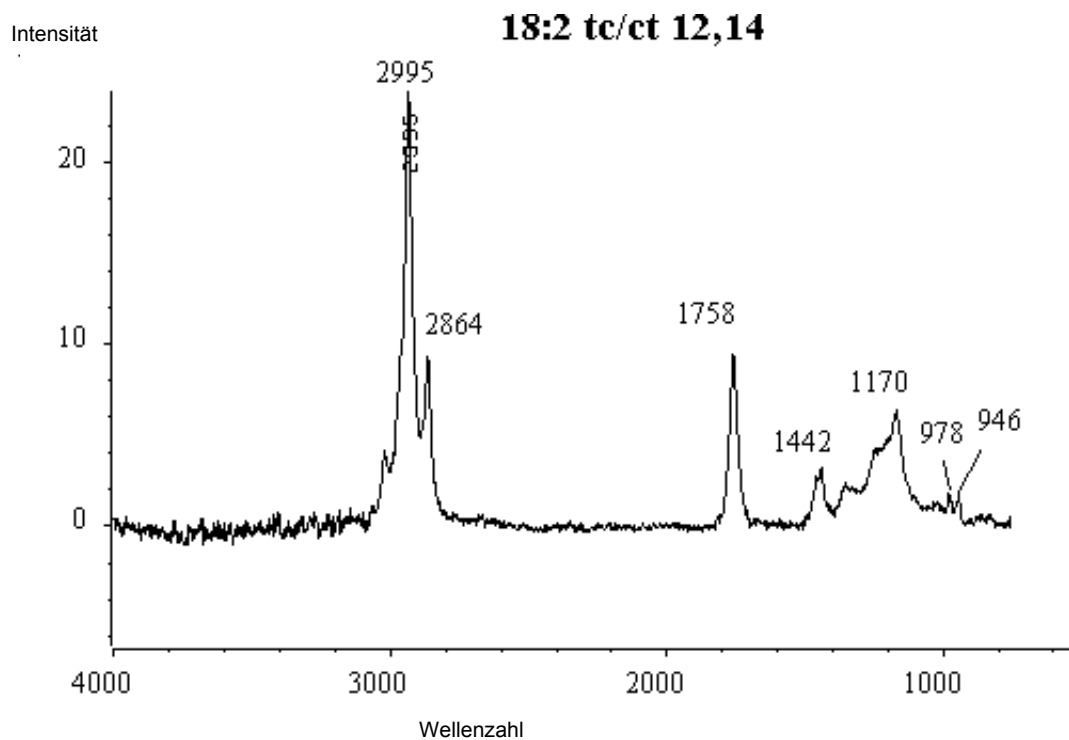


Abb. 4.11 FTIR-Spektrum einer c/t-Fraktion (C18:2 12,14; 11,13 und 7,9 ähnlich) mit den charakteristischen Banden bei 978 cm^{-1} und 946 cm^{-1}

4.1.5 PARTIELLE HYDRAZINREDUKTION

Die Identifizierung beruht auf der partiellen Hydrierung einer Doppelbindung und der gaschromatographischen Identifizierung der entstandenen Monoenfettsäuren. Durchgeführt wurden diese Reaktionen bisher ausschließlich mit den freien Fettsäuren (LAVILLIONNIÈRE et al., 1998a). Deshalb wurde zunächst in verschiedenen Voruntersuchungen eine optimierte Methode ermittelt und anschließend auf das zu identifizierende 11,13-Isomer der Rindfleischprobe (F5) angewendet.

Optimierung der Reduktion

Zunächst wurde die Methode auf ME übertragen. In Abb. 4.12 ist das Ergebnis der partiellen Hydrazinreduktion des CLA-Einzelisomers c9,t11-CLA-ME (Standardsubstanz) dargestellt. Das Diagramm zeigt die Gewichtsanteile von Edukt und Produkten im zeitlichen Verlauf. Die Auswertung erfolgte nach der Methode des IS. Hierzu wurde Heptadecansäuremethylester verwendet (s. 3.2.7).

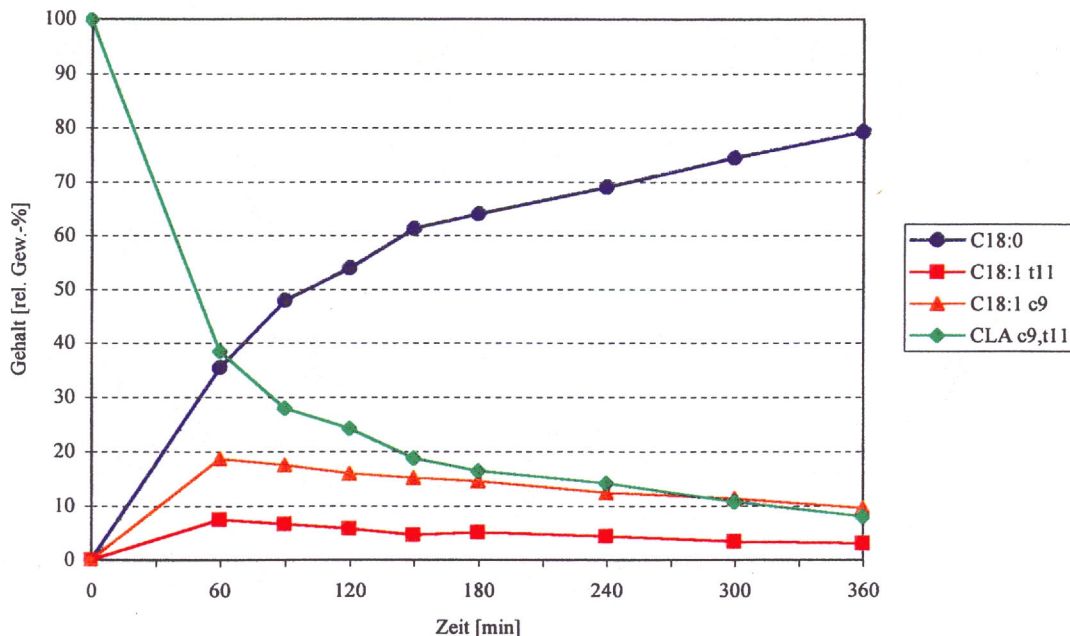


Abb. 4.12 Gehalte der Fettsäuren während der Hydrazinreduktion von c9,t11-C 18:2 als ME (C18:0 = Stearinsäure, C18:1 c9 = Ölsäure, C18:1 t11 = trans-Vaccensäure)

Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, nahm der Gehalt an c9,t11-C18:2 innerhalb von 60 Minuten um ca. 60 % ab. Nach dieser Zeit wurde der höchste c9-C18:1- sowie der t11-C18:1-Gehalt bestimmt. Auffällig war, dass der Gehalt an c9-C18:1 doppelt so hoch ist wie der Gehalt von t11-C18:1. Dieses Verhältnis blieb im zeitlichen Verlauf bestehen. Insgesamt betrug der C18:1-Anteil nach einstündiger Reaktionszeit 26 %. Neben der Ölsäure und der trans-Vaccensäure entstand durch vollständige Reduktion der Doppelbindungen des Edukts die Stearinsäure (C18:0). Die Stearinsäure nahm während der gesamten Reaktion den größten Anteil der Produkte ein. Da ein möglichst hoher C18:1-Anteil und ein möglichst geringer C18:0-Anteil das Ziel dieser

Methode war, ergab sich das beste Verhältnis des Edukts zu den erwünschten Produkten nach 60 Minuten. Es lagen zu diesem Zeitpunkt 38 % c9,t11-C18:2, 35 % Stearinsäure, 19 % Ölsäure und 7 % trans-Vaccensäure vor. Die optimierte Methode (s. Anhang 6.11) wurde anschließend auf die fünfte CLA-Fraktion angewendet. Die resultierenden C18:1-Isomere wurden nachfolgend gaschromatographisch untersucht.

Anwendung auf fraktionierte CLA-Isomere (11,13)

Eine vollständige gaschromatographische Trennung von trans-C18:1- und cis-C18:1-Isomere ist bisher nicht möglich (PRECHT und MOLKENTIN, 1995), jedoch konnten die zu bestimmenden c11-, t13-, t11- und c13-C18:1-Isomere getrennt werden. Die C18:1-Isomere der Fraktion wurden vorher an der Ag⁺-HPLC in ihre cis- und trans-Gruppe fraktioniert (s. Kap 3.1.6 und Anhang 6.13). Die darauf folgende gaschromatographische Analyse zeigte, dass die cis- bzw. trans-C18:1-Fraktion immer noch verschiedene Positionsisomere enthielt. Durch die vorhergehende Silberionenchromatographische Fraktionierung konnte jedoch eine Koelution der cis- und trans-C18:1-Isomere vermieden werden. Die C18:1-Isomere wurden über den Vergleich der Rt von Standardsubstanzen sowie über das Mengenverhältnis der vorkommenden Isomere identifiziert.

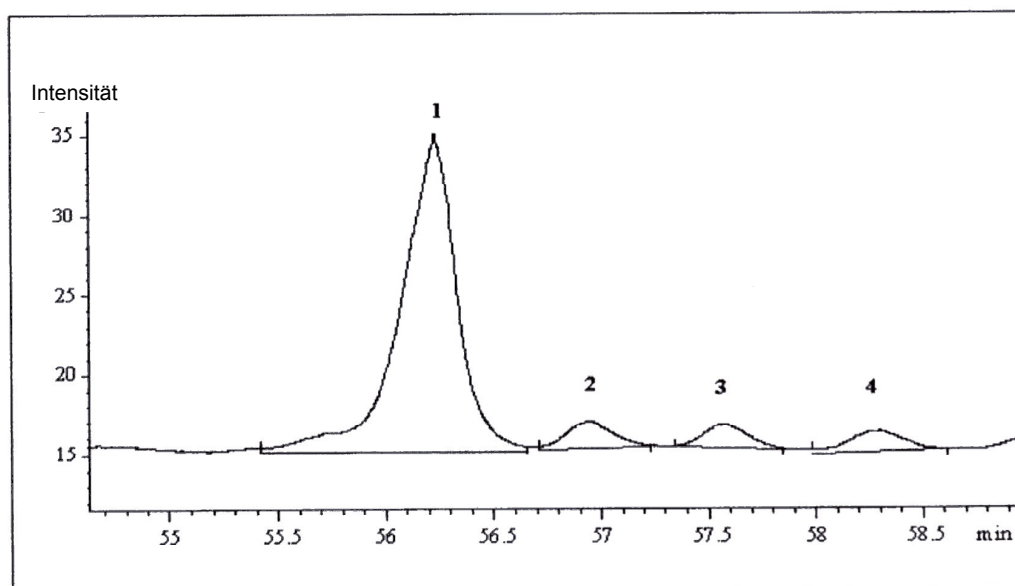


Abb. 4.13 GC-Chromatogramm von cis-C18:1-Isomeren der reduzierten Fraktion F5: (1 = c11; 2 = c12; 3 = c13; 4 = c14)

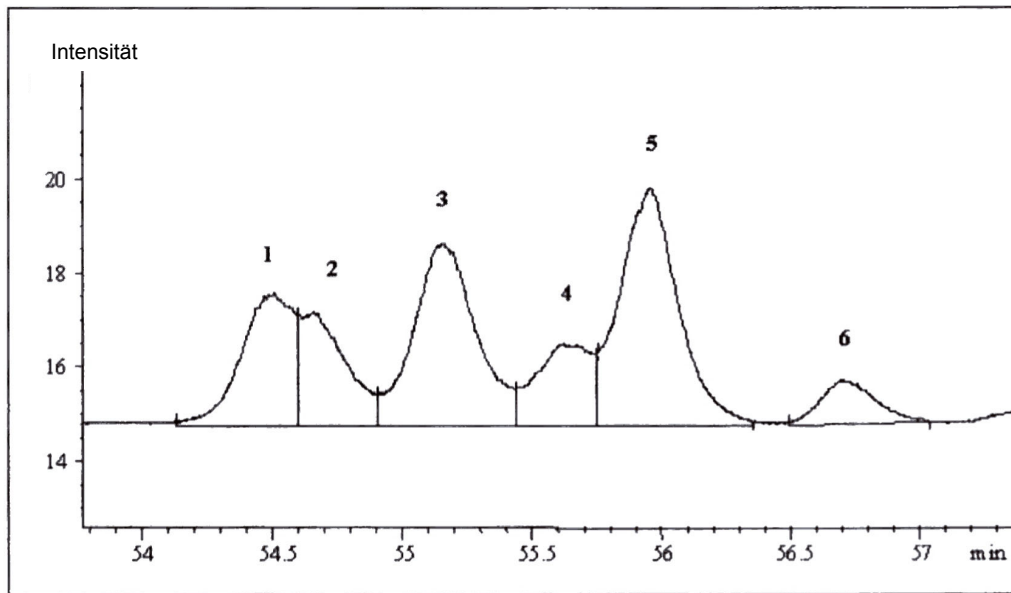


Abb. 4.14 GC-Chromatogramm von trans-C18:1-Isomeren der reduzierten Fraktion F5: (1 = t7; 2 = t9; 3 = t11; 4 = t12; 5 = t13; 6 = t15).

Peak 1 aus Abb. 4.13 wurde als c11-C18:1 und Peak 5 Abb. 4.14 als t13-C18:1 identifiziert. Aufgrund der prozentualen Verteilung dieser Isomeren in diesen Fraktionen wurde für die Fraktion F5 das c11,t13-C18:2- und für die Fraktion F4 (nicht reduziert, aber aufgrund der GC-MS Ergebnisse nur andere Konfiguration möglich) das t11,c13-C18:2-Isomer identifiziert.

4.1.6 DISKUSSION

Mit Einführung der Silberionenchromatographie von MORRIS (1963) gewann die Analytik von ungesättigten Fettsäuren große Bedeutung. Die Trennung nach Anzahl, Position und Konfiguration der Doppelbindung kann sowohl dünnschichtchromatographisch als auch über HPLC durchgeführt werden (WOLFF et al., 1998). Das Verfahren basiert auf der Bildung reversibler π -Komplexe (s. Kap. 3.1.6) der Doppelbindungen und Silberionen. Da cis-konfigurierte Doppelbindungen stabilere Komplexe bilden als trans-konfigurierte, eluieren letztere vor den cis-Isomeren (FIRESTONE und SHEPPARD, 1992). Mit dieser Methodik gelang es ADLOF (1996), 15 von 16 Positionsisomeren der Arachidonsäure zu trennen. Aber erst durch SEHAT et al. (1998) wurde die Möglichkeit gegeben, das CLA-Isomerenmuster zu bestimmen. Sie entwickelten eine HPLC-Methode mit 0,1% Acetonitril (ACN) in n-Hexan als Eluenten und UV-Detektion bei 234 nm, die als Ausgangsmethode zur Methodenoptimierung verwendet wurde. Mit den erzielten Ergebnissen konnte diese Methode hinsichtlich des Eluenten und der Temperatur bestätigt werden.

Der von ADLOF et al. (1995) verwendete Eluent (0,08 % ACN) zur Trennung von cis und trans-Monoenfettsäuren ergab angewendet auf die CLA-Isomeren Trennung nicht die erhoffte Steigerung der Trennleistung.

Andere Autoren verwendeten für die Analytik von TG ein Dichlorethan/DCM-Gemisch (1/1;v/v) mit wechselnden Gehalten an ACN (NIKOLOVA-DAMYANOVA et al., 1992). Die Detektion erfolgte massenspektrometrisch. Da jedoch die eigene Methode UV-Detektion bei 234 nm beinhaltete, konnten chlorierte Lösungsmittel nicht verwendet werden. Bei der genannten Wellenlänge sind chlorierte Eluenten nicht ausreichend UV-durchlässig. Lösungsmittel, die bei 234 nm eine genügende UV-Durchlässigkeit zeigen, sind neben ACN und n-Hexan, n-Heptan, MeOH und Wasser. Da n-Heptan dem n-Hexan sehr ähnliche Chromatographieeigenschaften aufweist, wurde auf eine Verwendung verzichtet. MeOH und Wasser erwiesen sich als zu polar. Schwierigkeiten ergaben sich bereits bei der Verwendung von n-Hexan und ACN nebeneinander, da beide Lösungsmittel nicht mischbar sind. Nur geringe ACN-Konzentrationen, wie sie im vorliegenden Fall verwendet wurden, ließen einen homogenen Eluenten zu. Dieser musste täglich neu angesetzt werden, um eine Verlängerung der Elutionszeit zu verhindern, die vermutlich aufgrund von Entmischung eintrat. Es wurden dennoch schlecht reproduzierbare Retentionszeiten erhalten, die zudem durch kleinste Veränderungen im ACN-Gehalt beeinflusst wurden. Eine Verschlechterung der Trennleistung ergab sich jedoch nicht.

Auch die Änderung der Temperatur ergab keine Änderung der Trennleistung. Dies bestätigen auch die Ergebnisse von NIKOLOVA-DAMYANOVA et al. (1992), die bei sinkender Temperatur eine Abnahme der Säulenkapazität feststellten, während bei höheren Temperaturen der Analyt stärker retardiert wurde.

Ziele anderer Arbeiten zur Verbesserung der CLA-Analytik basieren auf der Trennung der Isomere auf möglichst wenig Säulen, da bereits bei einer Verwendung von drei Silberionen-HPLC-Säulen der dreifache Preis resultiert und CHRISTIE (1987) nur eine begrenzte Haltbarkeit der Säule zeigen konnte. NIKOLOVA-DAMYANOVA et al. (2000) gelangen eine deutlich bessere Trennung der CLA-Isomere als p-Methoxy-phenacylester auf einer Silbersäule im Vergleich zur Verwendung der FSME. Ein weiterer Vorteil dieser Derivate liegt in der Detektion bei einer anderen Wellenlänge (270 nm), verbunden mit der Möglichkeit, chlorierte Lösungsmittel zu verwenden. So konnten die Autoren mit einer einzigen Silbersäule und einem Gradienten von 100% n-Hexan/DCM/ACN (40/60/0,2; v/v/v) für 30 min zu 100% DCM/Acetonitril (100/1; v/v) in 10 min und weiteren 20 min Haltezeit nicht nur die CLA-Isomere auftrennen, sondern zusätzlich weitere MUFA und PUFA bestimmen. LAVILLONNIÈRE et al. (1998a) und JUANÉDA und SÉBÉDIO (1999) kombinierten zusätzlich die Ag⁺-HPLC mit präparativer RP-HPLC, um u.a. eine Trennung von länger-kettigen konjugierten Fettsäuren zu erreichen. Diese Kombination stellt eine geeignete Kombination zur vorangehenden Trennung von weiteren konjugierten Fettsäuren dar. Aus Untersuchungen von SÉBÉDIO et al. (1997) wurde jedoch deutlich, dass weitere konjugierte Fettsäuren nur in ganz geringen Mengen vorkommen.

SEHAT et al. (1999) schlagen für den Fall von weiteren konjugierten Fettsäuren mit zwei Doppelbindungen ebenfalls RP-HPLC zur Trennung von CLA vor. Auf RP-HPLC wurde hier jedoch verzichtet, da der zur Fraktionierung eingesetzte CLA-Standard keine anderen konjugierten Fettsäuren enthielt.

Die Identifizierung der CLA-Isomere über GC-MS musste über DMOX-Derivate durchgeführt werden. Massenspektren von ungesättigten FSME sind häufig nicht eindeutig bestimmten Verbindungen zuzuordnen, da sich die Struktur der FSME während der Ionisierung in der Ionenquelle durch Wanderung der Doppelbindungen verändert (MARX und CLASSEN, 1994) (s. Kap. 3.1.6). Bei DMOX-Derivaten erfolgt eine Ionisierung vorzugsweise an der Stickstofffunktion, weshalb die Tendenz zur Wanderung der Bindungen stark reduziert ist (SPITZER, 1997). Neben der Umsetzung der FSME in die DMOX-Derivate können auch Pyrrolidin- oder Picolinylesterderivate zur eindeutigen Bestimmung der Position der Doppelbindungen verwendet werden (SPITZER et al., 1994). Die DMOX-Derivate haben jedoch den Vorteil, dass sie eine um etwa 10 °C höhere Elutionstemperatur verglichen mit den FSME aufweisen und sich die Elutionsreihenfolge und Trennqualität nicht ändert (ZHANG et al., 1988). So konnten diese Verbindungen auf den besser trennenden polaren Kapillarsäulen eingesetzt werden, wie sie bei der Analytik der FSME Verwendung finden (SPITZER et al., 1994).

Die Methode der partiellen Hydrazinreduktion zeigt dessen Verwendbarkeit zur Bestimmung von gemischt konfigurierten CLA-Isomeren sehr gut. Bereits 1982 beschrieben SÉBÉDIO und ACKMAN die Hydrazinreduktion als Methode zur Bestimmung der absoluten Konfiguration bei Isomeren der Eicosapentaensäure. Da bei dieser Reduktionsmethode weder die Position noch die Geometrie der verbleibenden Doppelbindung verändert wurde, konnte durch die Bestimmung der Produkte auf die Konfiguration der Edukte geschlossen werden (RATNAYAKE und PELLETIER, 1992). Auf CLA übertragen (hier das 8,10-Isomerenpaar) wurde diese Methode zuerst von LAVILLIONNIÈRE et al. (1998a) angewendet. Auch hinsichtlich der Reduktion der ME statt der freien Fettsäuren ist die Methode anwendbar, was eine deutliche Vereinfachung der Ausgangsmethode von LAVILLIONNIÈRE et al. (1998a) darstellt, da eine Umsetzung in die freien Fettsäuren entfällt. CHRISTIE (1989) diskutierte in diesem Zusammenhang die schlechtere Umsetzung der ME verglichen mit den freien Fettsäuren. Gemessen an anderen Methoden, bei denen Reaktionszeiten von einer bis sechs Stunden genannt werden (MIKOLAJCZAK und BAGBY, 1965; RATNAYAKE und PELLETIER, 1992), können die Angaben von CHRISTIE (1989) aufgrund der eigenen Ergebnisse jedoch nicht bestätigt werden. Problematisch zeigt sich die Reduktion jedoch hinsichtlich des Vorhandenseins anderer C18:1-Isomere. Sie setzt eine hohe Reinheit der eingesetzten Substanzen voraus.

Neben den zu identifizierenden Substanzen wie trans11-C18:1 oder cis13-C18:1 zeigten sich nach Reduktion der Fraktion F5 weitere C18:1-Isomere. Die betreffende Fraktion wies nur eine 70 %ige Reinheit auf (s. Tab. 4.1), so dass an dieser Stelle mit weiteren Isomeren gerechnet werden musste. Ein Rückschluss aus den entstandenen C18:1-Isomeren auf die Ausgangsverbindung war dennoch möglich. Eine schlechtere Reinheit hätte die Identifizierung des CLA-Isomers deutlich erschwert und eine verbesserte Fraktionierung erfordert. Die abschließende Zuordnung des CLA-Isomers 7,9 zur Konfiguration t7,c9 erfolgte aufgrund der Angaben nach YURAWECZ et al. (1998).

4.2 Bestimmung von CLA-Gehalten und -Isomerenmustern in Lebensmitteln

4.2.1 MILCH, MILCHERZEUGNISSE UND KÄSE

Die ermittelten Gehalte an Fettsäuren beziehen sich, sofern nicht anders angegeben, auf den Gesamt-FSME-Gehalt. Bei den Ergebnissen zur CLA-Isomerenverteilung beziehen sich die prozentualen Gehalte auf den Gesamt-CLA-Gehalt.

Die bisherigen Angaben zu Gesamt-CLA berücksichtigten nach gaschromatographischen Untersuchungen lediglich das Hauptisomer c9,t11-C18:2, das zudem die beiden CLA-Isomere t7,c9- und t8,c10-C18:2 überlagert (s. Kap. 1). In den eigenen Untersuchungen wurde für Gesamt-CLA die Summe aller CLA-Peaks ausgewertet. Wie aus Abb. 4.15 ersichtlich ist, machen die gesättigten Fettsäuren (SFA) mit ca. 65 % aller FSME den höchsten Anteil aus, gefolgt von den einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) mit ca. 30 %.

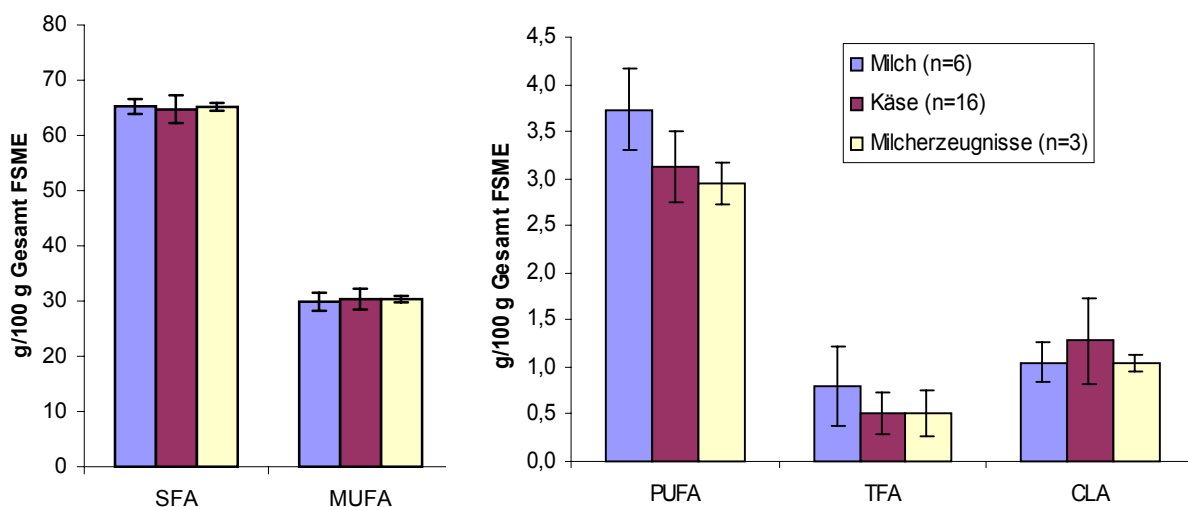


Abb. 4.15 Gehalte der Fettsäuregruppen im Fett von Milch und Milchprodukten (g/100 g FSME)

Diese Ergebnisse wurden bereits von FRITSCHKE und STEINHART (1997) bei der Untersuchung eines Lebensmittelwarenkorbess ermittelt. Die CLA-Gehalte in den untersuchten Proben schwankten zwischen 0,54 % in einem Kräuter-Quark und 1,95 % in einem Frischkäse, bezogen jeweils auf den Anteil an Gesamt FSME (Einzelergebnisse nicht gezeigt). Aufgrund der hohen Schwankungsbreite zeigen sich Unterschiede im CLA-Gehalt nur tendenziell. Sie sind im Käse mit ca. 1,3 % geringfügig höher als in der Milch (ca. 1,05%) oder in den Milcherzeugnissen (ca. 1,03 %) (Abb. 4.15). Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Produktgruppen konnten nur für TFA und PUFA zwischen Milch und Käseproben ermittelt werden ($p \leq 0,05$). Die Ergebnisse für Milch, Milcherzeugnisse und Käseproben werden im Anhang unter 6.15 aufgeführt.

Hinsichtlich der CLA-Isomerenverteilung ergaben sich zwischen Milch und Milcherzeugnissen keine Unterschiede, weshalb diese, die sich nur in ihrem Fettgehalt nicht jedoch in ihrer Herstellung unterschieden, zusammengefasst wurden. Kondensmilch und Käse wurden jeweils in eigenen Gruppen geordnet. Die Untersuchung der CLA-Isomeren ergab die in Tab. 4.3 dargestellten Ergebnisse.

Tab. 4.3 CLA-Isomeregehalte in Milch, Milcherzeugnissen sowie Kondensmilch und Käse

	Gehalt in g/100 g von Gesamt-CLA			Standardabweichung		
	Milch & Milch- erzeugnisse *)	Kondens- milch **)	Käse ***)	Milch & Milch- erzeugnisse	Kondens- milch	Käse
t13,t15	0,02 ^a ^{†)}	0,05 ^b	0,05 ^b	0,02	0,02	0,02
t12,t14	0,72 ^a	1,05 ^b	0,94 ^b	0,20	0,09	0,22
t11,t13	1,76 ^a	2,23 ^b	2,24 ^b	0,33	0,31	0,52
t10,t12	0,29	0,35	0,36	0,19	0,20	0,24
t9,t11	1,48	1,89	1,55	0,57	0,65	0,69
t8,t10	0,28	0,22	0,29	0,22	0,18	0,44
t7,t9	0,71	0,82	0,62	0,20	0,23	0,20
t6,t8	0,16	0,24 ^a	0,15 ^b	0,07	0,10	0,08
c/t 12,14	0,24 ^a	0,36 ^b	0,31 ^b	0,09	0,08	0,08
t11,c13	2,55	2,61	2,78	0,48	0,19	0,97
c11,t13	1,36	1,37	1,41	0,24	0,09	0,49
t10,c12	2,83 ^a	2,77	2,74 ^b	0,10	0,07	0,11
c9,t11	82,96	81,24	82,16	1,85	1,92	1,38
t8,c10	0,98	1,21 ^a	0,93 ^b	0,48	0,17	0,08
t7,c9	3,64	3,62	3,44	0,88	0,98	1,63
t,t-Gruppe	5,43 ^a	6,83 ^b	6,19	1,32	1,02	2,41
c/t-Gruppe	94,57 ^a	93,18 ^b	93,77	1,32	1,01	4,74

*) n=13 **) n=6 ***) n=17

^{†)} Unterschiedliche hochgestellte Buchstaben in einer Reihe bedeuten einen signifikanten Unterschied ($p \leq 0,05$)

In den untersuchten Produkten zeigten sich ähnliche CLA-Isomerenmuster mit sehr geringen Unterschieden (s. Tab. 4.3). So zeigte sich ein Gehalt von über 80 % des Hauptisomeres c9,t11-C18:2, gefolgt von mehr als 3 % t7,c9- und etwa 2,5 % der CLA-Isomere t10,c12- und t11,c13-C18:2. Hervorzuheben sind die Unterschiede der t,t-Gruppe zu der c/t-Gruppe zwischen Milch und Milcherzeugnissen und der Kondensmilchgruppe. Mit ca. 6,8 % t,t-Isomeren enthält Kondensmilch durchschnittlich 1,4 % mehr an diesen Isomeren mit entsprechend niedrigerem Gehalt in der c/t-Gruppe.

4.2.2 FLEISCHPROBEN

Bei den Fleischproben wurden deutliche Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung zwischen weide- (WGO) und silagegefütterten Ochsen (SGO) erhalten (s. Abb. 4.16). Die gaschromatographischen Untersuchungen ergaben signifikante Unterschiede in den SFA- und PUFA-Gehalten ($P \leq 0,05$, $n = 4$) und hochsignifikante Unterschiede in den MUFA und TFA-Gehalten ($P \leq 0,01$, $n = 4$) der unterschiedlichen Fütterungsgruppen. Der MUFA-Anteil der SGO lag mit 48,75 % etwa 10 % höher als der MUFA-Anteil der WGO mit 38,65 %. Der SFA-Anteil im Fleisch betrug bei den SGO 46,63 % und machte bei den WGO 51,89 % aus.

Der PUFA-Gehalt im Fettsäuremuster im Fleisch betrug bei den SGO 3,15 % und war damit etwa halb so hoch wie der PUFA-Gehalt im Fettsäuremuster der WGO mit 5,78 %. Auch der TFA-Gehalt ist bei WGO mit 3,24 % mehr als doppelt so hoch wie in der Gruppe der SGO. Der CLA-Gehalt im Fettsäuremuster des Fleisches betrug bei den SGO 0,34 %, bei den WGO 0,56 % und war ebenso hochsignifikant unterschiedlich ($n = 4$). Unterschiede der Fettsäuregruppen im Fleisch von Bullen aus unterschiedlichen Fütterungsgruppen konnten nicht festgestellt werden. Die Ergebnisse befinden sich im Anhang unter 6.15.

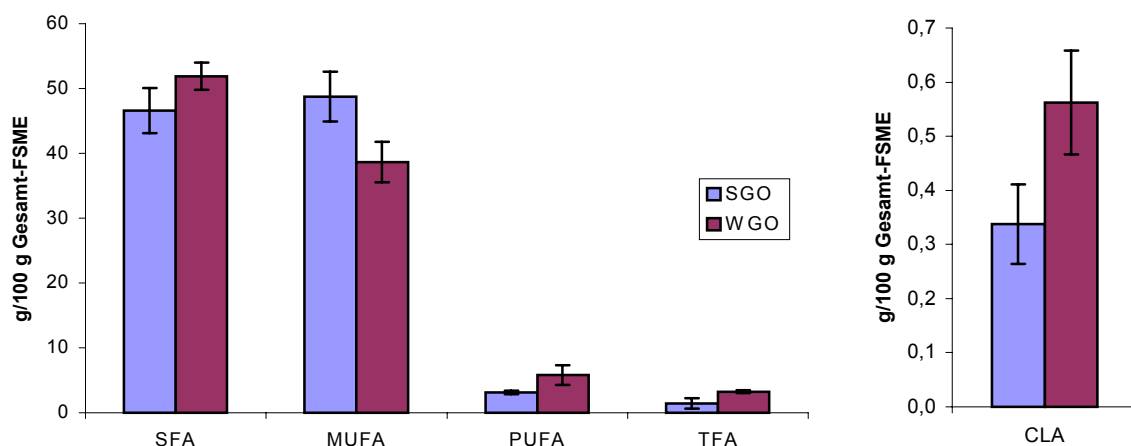


Abb. 4.16 Gehalte der Fettsäuregruppen im Fett des Fleisches von WGO und SGO ($n = 4$)

Da die ermittelte Gehalte an TFA und CLA Hinweise auf eine mögliche Korrelation ergaben, wurde sie vergleichend dargestellt. Es ergab sich die in Abb. 4.17 gezeigte Korrelation.

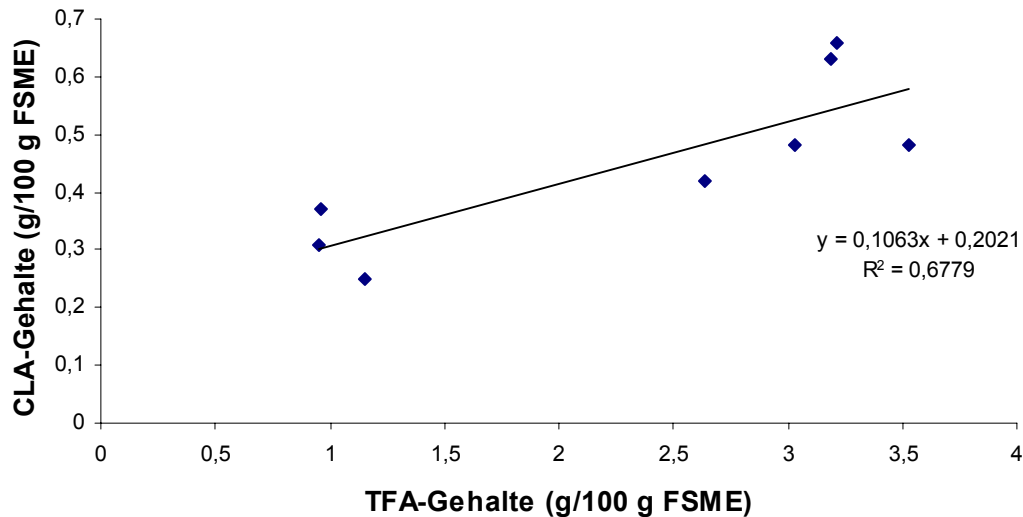


Abb. 4.17 Korrelationsgerade zwischen CLA und TFA im Fett vom Fleisch der SGO und WGO (g/100 g FSME)

Mit einem Korrelationskoeffizienten von über 0,82 ergibt sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Gehalt an TFA und dem Gehalt an CLA. Hinsichtlicher der CLA-Isomerenuntersuchung ergaben sich deutlich unterschiedliche CLA-Muster (s. Abb. 4.18).

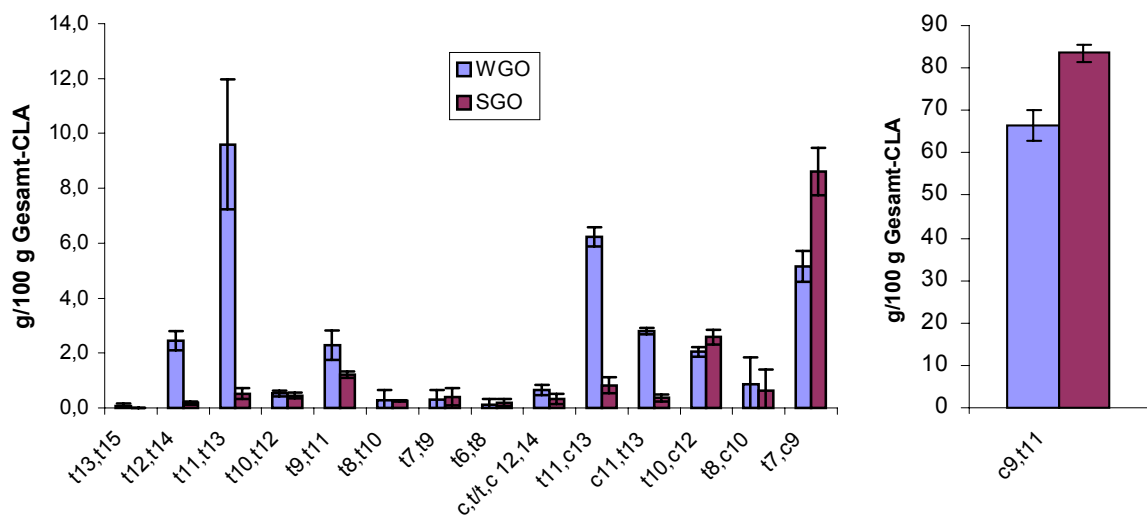


Abb. 4.18 Gehalte von CLA-Isomeren im Fett vom Fleisch unterschiedlich gefütterter Ochsen (n = 4)

Mit mehr als 80 % macht c9,t11-C18:2 den Hauptanteil der CLA-Isomere in den SGO aus, während dieses Isomer im Fleisch der WGO nur etwa 65 % an Gesamt-CLA ausmacht. Ebenso deutlich sind die Unterschiede beim t7,c9-CLA-Isomer von etwa 8,5 % in SGO-Gruppe zu 5 % in der WGO-Gruppe, bei den beiden gemischten c/t 11,13-CLA-Isomeren mit einem etwa 8-fach höheren Gehalt im Vergleich der WGO-Gruppe zur SGO-Gruppe oder noch deutlicher beim t11,t13-Isomer. Während der Gehalt in der SGO-Gruppe etwa 0,5 % beträgt, liegt er in der WGO-Gruppe mit ca. 9,5 % fast 20-fach so hoch. Die teilweise hoch signifikanten Unterschiede sind aus Tab. 4.4 ersichtlich.

Tab. 4.4 Wahrscheinlichkeitsniveaus der CLA-Isomere nach t-Test der WGO- zur SGO-Gruppe

CLA-Isomer	Wahrscheinlichkeit p (n=4)	CLA-Isomer	Wahrscheinlichkeit p (n=4)
t13,t15	0,1405	c/t 12,14	0,0459
t12,t14	0,0000	t11,c13	0,0000
t11,t13	0,0003	c11,t13	0,0000
t10,t12	0,3458	t10,c12	0,0150
t9,t11	0,0073	c9,t11	0,0002
t8,t10	0,8553	t8,c10	0,7340
t7,t9	0,6630	t7,c9	0,0005
t6,t8	0,5513	t,t-Gruppe	0,0004
		c/t-Gruppe	0,0004

Hoch signifikant ist auch der Unterschied zwischen der t,t- und c/t-Gruppe. So ist der Anteil an t,t-CLA-Isomeren in der WGO-Gruppe mit etwa 15 % fünf Mal so hoch wie in der SGO-Gruppe.

Unterschiede im CLA-Isomerenmuster des Fleisches mit α -Tocopherol gefütterter Bullen konnten nicht ermittelt werden. Die Ergebnisse belegen, dass das Fleisch der Bullen dem Fleisch der SGO ähnlicher ist als dem der WGO-Gruppe (s. Anhang 6.15 bzw. 6.16).

4.2.3 DISKUSSION

Da Milch, Milcherzeugnisse und Käse als Hauptquelle für CLA gelten (FRITSCHKE und STEINHART, 1998b) boten sich zunächst diese Lebensmittel als Untersuchungsmaterial an, zumal die CLA-Gehalte anderer Produkte auf dem Zusatz von Milch oder Milchprodukten beruhen (FRITSCHKE und STEINHART, 1998a). Jedoch bereits 1977 konnte PARODI einen Gehalt von 2,05 % CLA, hier das Hauptisomer c9,t11-C18:2, im Fett einer Milchprobe nachweisen. Dieser Gehalt scheint aufgrund der angegebenen Analytik zu hoch. PARODI (1977) lässt jedoch offen, ob der spektrophotometrisch bei 233 nm ermittelte Gehalt nach Aufreinigung erfolgte.

Ebenso zeigt das GC-Chromatogramm seiner Untersuchungen eine leichte Überlagerung der Stearinsäure. Später ermittelten andere Autoren niedrigere Gehalte an CLA (hier jedoch nur das Hauptisomer c9,t11-C18:2). Z.B. konnten CHIN et al. (1992) in Milch und Milcherzeugnissen Gehalte von 0,06 % (fettfreie Joghurtdessert) bis 0,70 % (Kondensmilch) ermitteln, während die Gehalte für Käse von 0,29 % (Romano) bis 0,71 % (Brick) reichten. LIN et al. (1995) ermittelten Gehalte von 0,4 bis 0,8 % in Käse, SHANTHA et al. (1992) 0,32 bis 0,89 % ebenfalls in Käse. In Untersuchungen von FRITSCHE und STEINHART (1998b) zeigten Milch und Milchprodukte wie Käse, Butter, Joghurt oder Speiseeis mittlere Gehalte von 0,84 bis 1,16 % CLA bezogen auf die Gesamtfettsäuren. Erklärbar sind diese doch sehr unterschiedlichen Gehalte durch unterschiedliche Prozessparameter, wie z.B. Lagerung, Zugabe von Zusatzstoffen oder Zutaten (SHANTHA et al., 1995; LIN et al., 1998), verwendete Starterkulturen (JIANG et al., 1998; PARIZA und YANG, 1999) oder durch unterschiedliche Fütterung der Milchkühe (JAHREIS et al., 1997; KELLY et al., 1998). Auch die Tatsache, dass bisher nur das Hauptisomer c9,t11-C18:2 berücksichtigt wurde, trägt zu den genannten Unterschieden im Vergleich zu den eigenen Untersuchungen bei. Die Bestimmung von CLA in verschiedenen Lebensmitteln ist im Hinblick auf die genannten Studien und der darauf basierenden physiologischen Wirkungen notwendig, da die für die Tiermodelle und Zellkulturstudien eingesetzten CLA-Gemische nicht den natürlich vorhandenen Mengen entsprechen und ebenfalls nicht die gleiche Isomerenverteilung aufweisen. Aus diesem Grund sind die innerhalb der menschlichen Ernährung verzehrten CLA anders zusammengesetzt als die CLA, für die die positiven Wirkungen ermittelt wurden. Dies ist zusätzlich bedeutsam, da KNEKT et al. (1996) und ARO et al. (2000) eine inverse Korrelation mit der Aufnahme von Milchfetten zu Brustkrebs nach Ausschluss anderer Faktoren ermittelten, was in anderen Studien bestätigt, aber auch widerlegt wurde. ARO et al. (2000) bestimmten das Fettsäuremuster der Sera und ermittelten anhand von Ernährungsprotokollen eine inverse Korrelation zwischen dem Gehalt an CLA und dem Risiko, an Brustkrebs zu erkranken. Einen Überblick über epidemiologische Studien zum Verzehr von Milchprodukten und dem Risiko, an Krebs zu erkranken, gibt JAIN (1998).

Mit über 80 % macht c9,t11-C18:2 den größten Anteil aller CLA-Isomere aus (s. Tab. 4.3). Bereits 1992 stellten CHIN und Mitarbeiter fest, dass dieses Isomer deutlich mehr als 80 % ausmacht. In ihrer Studie stellten sie sogar stellenweise bis zu 92 % in homogenisierter Milch und bis zu 95 % dieses Isomers in Käse fest. Sie machten jedoch keine Angaben über die Gehalte anderer Isomere.

Die in den eigenen Untersuchungen ermittelten Unterschiede bei der Summe der t,t-CLA-Isomeren für die Milch und Milcherzeugnissen zur Kondensmilch und zum Käse ist durch die stärkere und längere Wärmebehandlung bei der Herstellung der genannten Produktgruppen erklärbar.

Während sich Milch und Milcherzeugnisse (Schlagsahne, Kaffeesahne) grundsätzlich nur in ihrem Fettgehalt unterscheiden (s. Anhang 6.3) wird Kondensmilch darüber hinaus einem besonderen Herstellungsverfahren (Eindampfen zur Verdickung und Konzentrierung) unterworfen.

LAVILLONNIÈRE et al. (1998a) untersuchten französischen Käse unterschiedlicher regionaler und saisonaler Herkunft und bestimmten Summen von CLA-Isomeren über GC. Diese Summen umfassten jedoch mindestens zwei Isomere. Die Autoren konnten feststellen, dass sich die Käse im Gehalt unterschieden, nicht jedoch so sehr in der bei ihnen bestimmten Isomerenverteilung. In Untersuchungen zu CLA-Isomerenverteilung konnten GNÄDIG et al. (2001) ebenfalls nur geringe Unterschiede zwischen der Ausgangsmilch und unterschiedlich lang gereiften Käsen mit verschiedenen Fermentationskulturen (u.a. mit *Propionibacterium* sp.) bei der Emmentalerproduktion feststellen.

Bei Fleischuntersuchungen ermittelten FRITSCHKE und STEINHART (1998a) mit 0,43 bis 0,65 % c9,t11-C18:2 im Gesamtfett von Rindfleisch deutscher Herkunft ähnlich hohe Gehalte wie die gezeigten Ergebnisse. CHIN et al. (1992) fanden in ihren Untersuchungen Gehalte von 0,29 bis 0,43 % c9,t11-C18:2 im Gesamtfett von Rindfleisch amerikanischer Herkunft. Damit liegen deren Gehalte leicht unter den eigenen Werten. In neueren Untersuchungen ergaben sich Gesamt-CLA-Gehalte von 0,19 bis 0,54 % in Rindfleisch amerikanischer Herkunft FRITSCHKE et al. (2000).

Unterschiede sind einerseits auf eine unterschiedliche Fütterung zurückzuführen, andererseits aber auch darauf, dass CHIN et al. (1992) nur das Hauptisomer auswerteten. Unterschiede im CLA-Gehalt durch Fütterungseinfluss stellten bereits SHANTHA et al. (1997) bei der Untersuchung von Fleisch unterschiedlich gefütterter Rinder fest. Sie fanden signifikante Unterschiede im Gehalt von c9,t11-C18:2 im Fettsäuremuster einer Weidegruppe (0,74 % c9,t11-C18:2 im Gesamtfett) verglichen mit einer getreidegefütterten Gruppe (0,51 % c9,t11-C18:2). Auch FRENCH et al. (2000) stellten unterschiedliche Gehalte an c9,t11-C18:2 im Fettsäuremuster in Fleisch von Rindern fest, die mit unterschiedlichen Gehalten verschiedener Futterzusätze, Grassilage oder Weidegras gefüttert wurden. Sie ermittelten eine Steigerung des Gehaltes an c9,t11-C18:2 in intramuskulärem Fett in Abhängigkeit vom steigenden Weidegrasanteil. Bereits 1972 ermittelten LATHAM und Mitarbeiter den Einfluss eines besonders rohfaserreichen Futters im Vergleich zu einem rohfasärmeren Futter auf das Fleisch von Wiederkäuern und die Milchfettzusammensetzung. Ein rohfaserarmeres Futter erniedrigte u.a. die Anzahl lipolytischer Bakterien, während ein rohfaserreiches Futter diese erhöhte. Aufgrund der schnellen Verfügbarkeit verwertbarer Zucker und löslicher Rohfasern bildet sich eine für die Bildung von CLA gute Umgebung der in ihr lebenden Mikroorganismen *Butyrivibrio fibrisolvans* aus (KELLEY et al., 1998).

DHIMAN et al. (1999) ermittelten in der Milch silagegefütterter Kühe niedrigere CLA-Gehalte und führten dies auf den niedrigeren Gehalt an Zuckern und löslichen Rohfasern im Silagefutter zurück. Hierdurch ergibt sich wie bereits erwähnt eine für die Mikroorganismen suboptimale Umgebung. JAHREIS et al. (1997) untersuchten Milchproben unterschiedlich gefütterter und gehalteter Kühe und ermittelten ebenfalls signifikante Unterschiede im Gehalt von c9,t11- und t9,c11-C18:2. Der Gehalt in der Stallgruppe betrug 0,34 % im Gesamtfett, in der weidegefütterten Gruppe 0,61 %, während der Gehalt an den beiden genannten Isomeren in einer ökologisch gehaltenen Kuhgruppe 0,80 % betrug. Darüber hinaus ermittelten sie Unterschiede im Gehalt hinsichtlich saisonaler Bedingungen. Die genannten Unterschiede führten JAHREIS et al. (1997) ebenfalls auf die unterschiedliche Fütterung zurück.

Bei Schweinen konnte ebenfalls ein Fütterungseinfluss festgestellt werden. GLÄSER et al. (2000) konnten nach Gabe eines Futters mit teilgehärteten Fetten eine Erhöhung des CLA-Gehaltes im Rückenspeck von Schweinen ausmachen, was sie auf den hohen Anteil an TFA im Futter zurückführten.

Bisher ermittelten nur FRITSCHÉ et al. (2000) in Lebensmitteln (Rindfleisch) eine CLA-Isomerenverteilung. Sie fanden eine zu den eigenen Ergebnissen uneinheitliche CLA-Isomerenverteilung (s. Tab.4.5). So lag der Gehalt des Hauptisomers mit durchschnittlich 72 % zwischen der WGO-Gruppe und der SGO-Gruppe. Gleiches gilt für die anderen Isomere. Zurückzuführen ist dies auf den deutlichen Einfluss der Fütterung. Wurde bei den eigenen Untersuchungen eine rein weidegefütterte bzw. silagegefütterte Gruppe betrachtet, so basierte das Futter der Rinder bei FRITSCHÉ et al. (2000) auf 30% Silage (Getreide/Gras: 50/50) und 70 % Futtermischung aus Mais, Sojamehl, Baumwollspelzen, Weizenstroh, Melasse, Salz und Mineralien. Mit 0,27 % Gesamt-CLA liegt der von FRITSCHÉ et al. (2000) ermittelte Gehalt deutlich niedriger als in vorangegangenen Untersuchungen (vgl. Kap 1.3).

Tab. 4.5 Gehalte an CLA-Isomeren (n=20) in Rindfleisch nach FRITSCHÉ et al. (2000)

CLA-Isomer	g/100 g Gesamt-CLA	CLA-Isomer	g/100 g Gesamt-CLA
t13,t15	n.b. *)	t11,c13	2,21 ± 0,74
t12,t14	1,85 ± 1,11	c11,t13	1,11 ± 0,37
t11,t13	1,85 ± 0,74	t10,c12	2,58 ± 0,74
t10,t12	1,85 ± 0,74	c9,t11	71,96 ± 19,93
t9,t11	3,69 ± 1,11	t8,c10	2,58 ± 0,74
t8,t10	0,74 ± 0,37	t7,c9	7,01 ± 1,48
t7,t9	1,48 ± 0,37	t,t-Gruppe	11,46 ± 4,44
t6,t8	< 0,74	c/t-Gruppe	88,19 ± 24,37
c/t 12,14	0,74 ± 0,37	Gesamt-CLA	0,27 ± 0,07

*) n.b. = nicht bestimmt

FRENCH et al. (2000) diskutieren in diesem Zusammenhang ein verringerten CLA-Gehalt durch den hohen Leistungsfutteranteil. Wie beim Gesamt-CLA-Gehalt bereits dargestellt, resultiert dieser Effekt möglicherweise auch aus den besseren Lebensbedingungen für die Mikroorganismen, die mit ihren Isomerasen für die Bildung von trans-Isomeren verantwortlich sind (DHIMAN et al., 1999).

Die in diesem Abschnitt dargestellten Ergebnisse zeigen, dass sowohl der CLA-Gehalt als auch die CLA-Isomerenverteilung nur geringfügig durch technologische Prozesse bei der Herstellung von Käse beeinflusst werden. Dagegen zeigen unterschiedliche Fütterungen bei Rindern einen wesentlich größeren Einfluss insgesamt auf CLA (Gehalte und Isomerenverteilung) und damit auf die für CLA wichtigen Ausgangsrohstoffe bei der Lebensmittelproduktion mit den höchsten CLA-Gehalten. Da insgesamt jedoch ein höherer CLA-Gehalt in der WGO-Gruppe resultiert, kann möglicherweise eine Weidefütterung von Rindern zu einem qualitativ höherwertigen Fleisch führen, sofern sich die positiven physiologischen Eigenschaften der CLA auf den menschlichen Organismus übertragen lassen. Ebenso machen diese Ergebnisse deutlich, dass neben dem Hauptisomer und dem in den bisher durchgeführten Tierversuchen und Zellkulturstudien verwendeten t10,c12-C18:2 auch andere Isomere, wie z.B. das t7,c9- oder die Isomere von c/t-11,13 aufgrund ihrer Gehalte bei weiteren Studien berücksichtigt werden sollten.

4.3 Untersuchung von Mamma- und Ovargewebe

4.3.1 CLA-GEHALT UND CLA-ISOMERENMUSTER

Die GC-Analysen der Humangewebe ergaben bei beiden Gewebearten einen SFA-Anteil von etwa 36 %, einen MUFA-Anteil von etwa 49 % (Ausnahme: Ovar tumor mit ca. 41 %) und einen PUFA-Anteil von etwa 12 %, wieder mit der Ausnahme des Ovar tumorgewebes von ca. 21 % (s. Abb. 4.19). Der CLA-Gehalt betrug im Mammatumorgewebe 0,62 % und liegt leicht über dem CLA-Gehalt in dem entsprechenden Fettgewebe mit 0,49 %. In den Ovargeweben liegt der CLA-Gehalt mit 0,54 % im Krebsgewebe leicht unter dem CLA-Gehalt im Ovarfettgewebe.

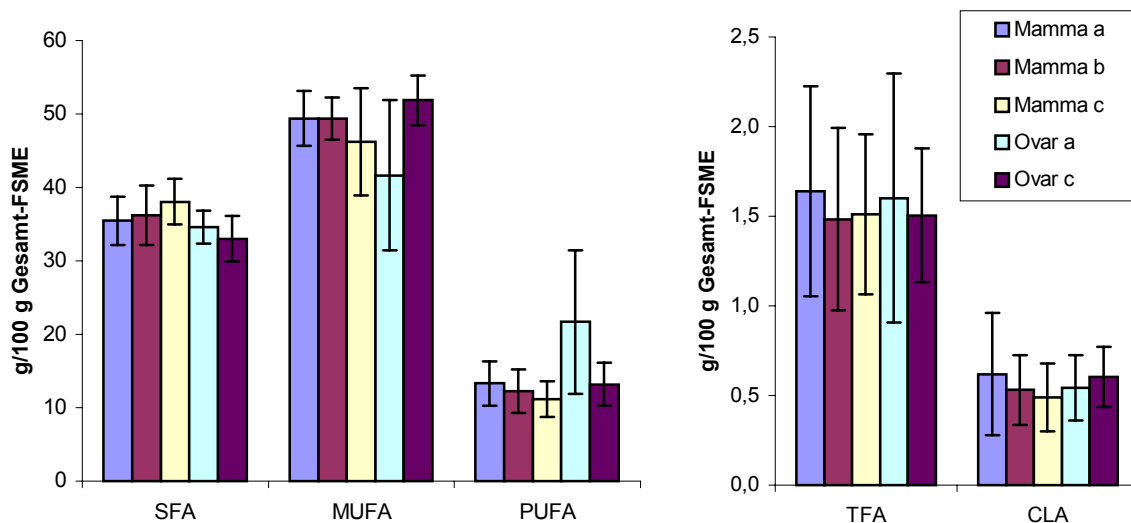


Abb. 4.19 Gehalte der Fettsäuregruppen in Mamma- und Ovargewebe (a=Tumorgewebe; b=Fettgewebe am Tumor; c= Fettgewebe vom Tumor weg; Mamma: a und c: n=10; b: n=7; Ovar a und c: n=6)

Signifikante Unterschiede ergaben sich im Vergleich des Ovariumtumorgewebes zum Mammatumorgewebe bei den MUFA und PUFA ($p \leq 0,05$, $n=6$), wobei der Gehalt an MUFA im Ovariumtumor niedriger liegt als im Mammatumorgewebe, während der Gehalt an PUFA im Ovariumtumor höher liegt als im Mammatumorgewebe. Hier spiegeln sich die bereits erwähnten Einflüsse der Ernährung wieder. Während Brustgewebe durch die Ernährung beeinflusst werden kann, wird dies für ovariales Gewebe eher ausgeschlossen. Weitere Unterschiede sind im Vergleich von Ovariumtumorgewebe und Ovariumfettgewebe erkennbar. Hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied im bereits genannten Gehalt an MUFA ($p \leq 0,05$, $n=6$). Tendenziell lag auch der Gehalt der PUFA im Ovariumtumorgewebe höher als im entsprechenden Fettgewebe. Generell besteht Tumorgewebe im Gegensatz zu Fettgewebe aus einem höheren Anteil an Membranen, die wiederum auf PL basieren. PL enthalten einen höheren Anteil an PUFA. Signifikant höher war auch der Gehalt an Arachidonsäure in allen hier untersuchten Tumorgeweben, verglichen mit den Fettgeweben (Einzelergebnisse nicht gezeigt).

Hinsichtlich der CLA-Isomerenuntersuchung zeigte sich, entsprechend den Ergebnissen der Lebensmittelproben, c9,t11-C18:2 in allen untersuchten Geweben als Hauptisomer (s. Abb. 4.20 und 4.21). Die nächst häufigsten CLA-Isomere sind im Mammagewebe t7,c9- und t9,t11-C18:2 mit etwa 3-4%, wobei im Tumorgewebe zusätzlich t10,c12- und t8,c10-C18:2 mit ca. 3% einen relativ hohen Anteil ausmachen (s. Abb. 4.20).

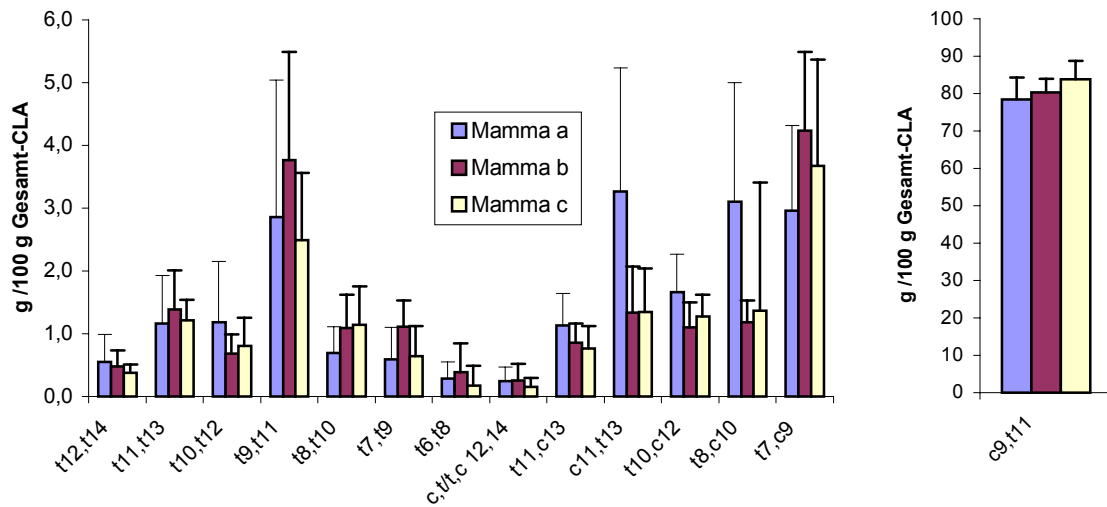


Abb. 4.20 Gehalte von CLA-Isomeren in Mammagewebe (a=Tumorgewebe: n=11; b=Fettgewebe am Tumor: n=7; c=Fettgewebe weg vom Tumor: n=10)

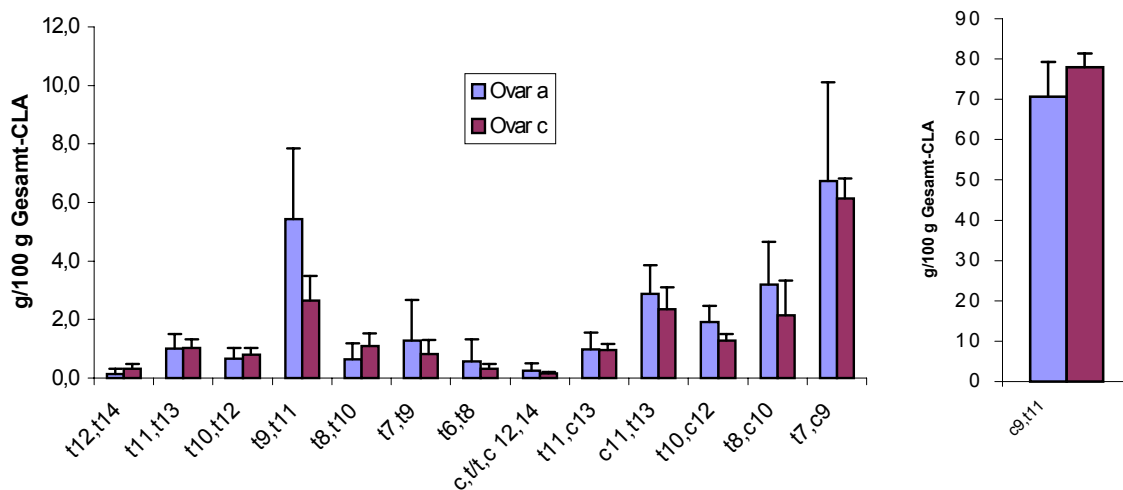


Abb. 4.21 Gehalte von CLA-Isomeren in Ovargewebe (a=Tumorgewebe; c=Fettgewebe; jeweils n=6)

Die CLA-Gehalte in den Ovargeweben sind mit denen in den Mammageweben vergleichbar (s. Abb. 4.21). Auch hier machen die CLA-Isomere der c/t-Gruppe, besonders t7,c9-C18:2, und das t9,t11-C18:2-Isomer mit etwa 6 % die nächst höheren Gehalte aus, wobei der Gehalt vom t9,t11-Isomer im Ovarfettgewebe mit ca. 2,5 % signifikant ($p \leq 0,05$, n=6) niedriger ist als im Tumorgewebe. Tendenziell liegt der Gehalt an t,t-Isomeren im Fettgewebe niedriger als im vergleichbaren Tumorgewebe. Dies gilt sowohl für Ovar- als auch für Mammagewebe. Eine abschließende Erklärung hierfür ist jedoch schwierig, ist aber möglicherweise auf eine verringerte Aktivität von Isomerasen im Fettgewebe zurückzuführen.

Signifikante Unterschiede bei einzelnen Isomeren ergeben sich ausschließlich zwischen den Gewebearten selbst. In Tab. 4.6 sind die Gehalte der CLA-Isomere c9,t11- und t7,c9-C18:2 aufgeführt.

Tab. 4.6 Gehalte der CLA-Isomere c9,t11- und t7,c9-C18:2 in den betrachteten Geweben (in g/100 g Gesamt-CLA)

	c9,t11-C18:2		t7,c9-C18:2	
	Mamma	Ovar	Mamma	Ovar
Tumor (a)	78,34 ^{a1 *}	70,59 ^b	2,96 ^a	6,93 ^b
Fett (c)	83,74 ^{a2}	77,96 ^b	3,68 ^a	6,15 ^b

*) Unterschiedliche Buchstaben in einer Zeile bzw. unterschiedliche Zahlen in einer Spalte bedeuten signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$; Mammatumor: n=11; Mammafett: n=10; Ovargewebe: jeweils n=6)

Mit ca. 70 % beträgt der Gehalt von c9,t11-C18:2 in Ovariumgewebe etwa 8 % weniger als im Mammatumorgewebe. Mit 6% im Fettgewebe fällt dieser Unterschied etwas geringer aus. Der Gehalt von t7,c9-C18:2 liegt im Ovariumgewebe dagegen mit ca. 6,5% etwa doppelt so hoch wie im Mammagewebe. Zurückzuführen sind diese Ergebnisse vermutlich ebenfalls auf den Einfluss der Ernährung.

Signifikant unterschiedlich ist auch der Gehalt von c9,t11-C18:2 im Vergleich von Mammatumor- zu Mammafettgewebe. Dies ist insofern von Bedeutung, als dass diesem Isomer die anticancerogene Wirkung zugesprochen wird. Damit werden ebenfalls die Vermutungen von LAVILLONNIÈRE et al. (1998b) gestützt, die dieses Isomer (als Summe der CLA-Isomere c9,t11-, t8,c10- und t7,c9-C18:2) bei Brustkrebsuntersuchungen auswerten konnten und im Krebsgewebe einen erniedrigten Gehalt ermittelten. Tendenziell ergeben sich auch im Ovariumgewebe die gleichen Ergebnisse für dieses Isomer. Bemerkenswert ist jedoch, dass das t7,c9-C18:2-Isomer im Mammagewebe ebenfalls diese Tendenz zeigt, nicht jedoch im Ovariumgewebe. Hier offenbart sich im Ovariumgewebe ein höherer Gehalt als im Ovarfettgewebe.

4.3.2 EICOSANOIDE

Mit der optimierten Analytik (s. Kap. 3.2 und Anhang 6.13 und 6.14.2) konnten PG-Gehalte in den Mamma- und Ovargeweben bestimmt werden (s. Abb. 4.22).

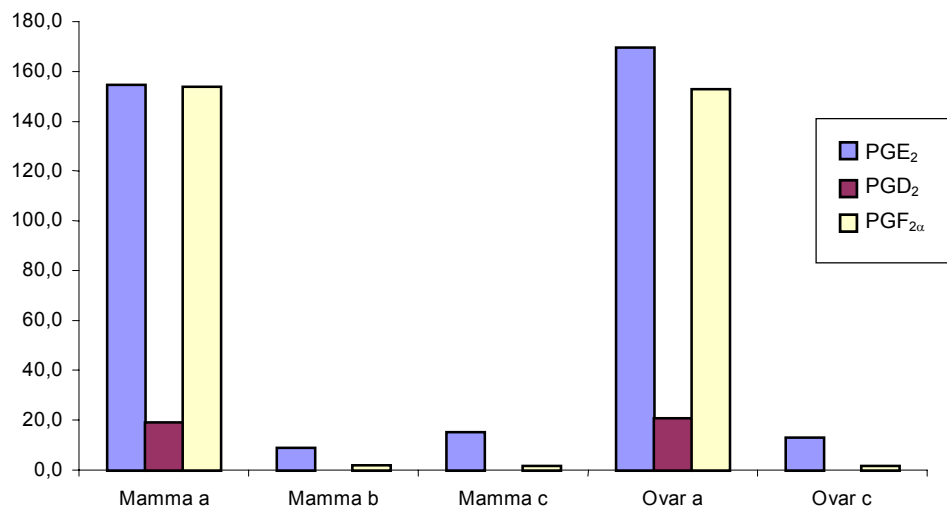


Abb. 4.22 Eicosanoidgehalte (ng/g Gewebe) in den untersuchten Mamma- und Ovargeweben (a=Tumorgewebe; b=Fettgewebe am Tumor; c=Fettgewebe weg vom Tumor)

Wie erwartet enthielten die Tumorgewebe, sowohl von Mamma als auch von Ovar, die höchsten Eicosanoidgehalte. Mit ca. 160 ng/g Gewebe entsprachen die Gehalte von PGE₂ in etwa denen von PGF_{2α}. Mit etwa 20 ng/g Gewebe lag der Gehalt an PGD₂ deutlich darunter. Auch in den Fettgeweben dominierte PGE₂. Die hier ermittelten Mengen lagen jedoch mit ca. 15 ng/g Gewebe deutlich unter den Gehalten, die im Tumorgewebe ermittelt wurden. Mit ca. 2 ng/g Gewebe war PGF_{2α} gerade noch bestimmbar, während PGD₂ in den Fettgeweben nicht mehr nachweisbar war. TXB₂ war in keinem Gewebe nachweisbar, was einerseits auf die hohe Nachweisgrenze und für TX ungeeignete Methode, andererseits auch auf die niedrigen Gehalte von TXB₂ im Gewebe zurückzuführen ist (SCHRÖR, 1990).

Das untersuchte tumorinfiltrierte Netz wies darüber hinaus die in Tab. 4.7 dargestellten Gehalte auf.

Tab. 4.7 Eicosanoidgehalte des tumorinfiltrierten Netzes (ng/g Gewebe)

Patientin	PGE ₂	PGD ₂	PGF _{2α}
XIII	6012	52,8	1038

Der mit etwa 6 µg/g Gewebe ermittelte Gehalt von PGE₂ im tumorinfiltrierten Netz liegt fast 40fach höher als im Tumorgewebe. Auch für die anderen PG konnte ein vielfacher Gehalt verglichen mit dem Tumorgewebe bestimmt werden.

4.3.3 DISKUSSION

Hinsichtlich des Arachidonsäuregehaltes werden die eigenen Ergebnisse von denen von PETREK et al. (1997) bestätigt, die erhöhte Arachidonsäuregehalte im Brustkrebsgewebe bei 161 Patientinnen feststellen konnten.

Bei den CLA zeigen sich jedoch Diskrepanzen. Entgegen den Ergebnissen zu den CLA-Gehalten im Mammagewebe zeigen sich die Resultate von LAVILLONNIÈRE et al. (1998b), die bei 261 Patientinnen mit Brustkrebs und 99 mit gutartigem Tumor für die Brustkrebsgruppe einen niedrigeren CLA-Gehalt (gaschromatographisch ausgewertetes Hauptisomer) ermittelten.

Unter Berücksichtigung der möglichen anticancerogenen Wirkung der CLA (s. Kap. 1.1) sollten bei vermutetem Wirkmechanismus die ermittelten Gehalte im Fettgewebe höher liegen als im entsprechenden Tumorgewebe. Damit verbunden reduziert sich die physiologische Bildung der Arachidonsäure, weshalb ebenfalls eine verringerte Bildung von PGE₂, einem typischen Entzündungspromotor bei der Krebsbildung, resultiert. Diese besonders für Mammagewebe widersprüchlichen Ergebnisse sind möglicherweise auf die zu geringe Zahl an Patientinnen zurückzuführen. Bei dieser geringen Anzahl von 10 Probandinnen beeinflussen physiologische Bedingungen einzelner Patientinnen vermutlich den CLA-Gehalt wesentlich stärker als bei einer höheren Anzahl. Ebenso sind die Schwankungsbreiten bei den Tumorgeweben höher als im Fettgewebe. Daraus schlussfolgernd sollte eine deutlich größere Anzahl an Proben untersucht werden, um eine statistisch gesicherte Aussage treffen zu können. Kein Unterschied konnte für das Fettgewebe am Tumor ermittelt werden, obwohl der CLA-Gehalt zwischen Fettgewebe und Tumorgewebe lag. Auch die Ergebnisse von LAVILLONNIÈRE et al. (1998b) sollten kritisch betrachtet werden. So besteht die Brustkrebsgruppe vorwiegend aus Frauen nach den Wechseljahren, womit sie ein entsprechend hohes Alter aufweisen. Dies ist bedeutsam, da Brustkrebs besonders häufig bei Frauen in der Postmenopause auftritt. Auch der body mass index in der Brustkrebsgruppe ist höher als in der anderen Gruppe. Hervorzuheben ist auch, dass eine gaschromatographische Auswertung, wie sie von den Autoren vorgenommen wurde, nur etwa 85 % der vorkommenden CLA-Isomere berücksichtigt und zudem fälschlicherweise nur dem c9,t11-CLA-Isomer zugeordnet wurde.

Mit 0,36 % c9,t11-C18:2 aller FSME in Fettgewebe aus der Brustbeinregion ermittelten FRITSCHÉ et al. (1998) leicht niedrigere CLA-Gehalte. Sie werteten jedoch nur dieses Isomer aus. Die Autoren korrelierten diesen Gehalt mit der täglichen CLA-Aufnahme. Für eine Begründung des in den eigenen Untersuchungen ermittelten Gehaltes reicht dieses Argument jedoch nicht aus. Die Ernährung bildet sicherlich die Hauptquelle der im Gewebe vorhandenen CLA-Gehalte, jedoch muss eine weitere Möglichkeit bestehen, CLA zu bilden und somit den höheren CLA-Gehalt zu erklären. Auch JIANG et al. (1999) ermittelten einen CLA-Gehalt (c9,t11-C18:2) von 0,5 % an Gesamt-FSME im subcutanem Fettgewebe von schwedischen Männern.

Da GRIINARI et al. (1999) eine erhöhte Aktivität der Δ^9 -Desaturase in unterschiedlichen Geweben von Rindern ermittelten, könnte bei einer für menschliches Gewebe entsprechend erhöhten Aktivität dieses Enzyms ein höherer CLA-Gehalt durch die Desaturierung von t11-C18:1 und t7-C18:1 (s. 4.4) resultieren. Da insbesondere Milchfett hohe Anteile von t11-C18:1 enthält, ist der im Vergleich zur direkten Aufnahme von CLA über die Nahrung im Fettgewebe höhere CLA-Gehalt und die signifikante Korrelation der Zufuhr an Milchfetten zum CLA-Gehalt in Fettgewebe erklärbar (JIANG et al., 1999).

Hinsichtlich der Bestimmung von CLA-Isomeren in Mamma- und Ovargewebe gibt es derzeit keine Untersuchungen. FRITSCHÉ et al. (1997) konnten die vier geometrischen 9,11-CLA-Isomere in Gewebe mittels GC-MS und GC-DD-FTIR nachweisen, bestimmten aber kein CLA-Isomerenmuster. Auch LAVILLONNIÈRE et al. (1998b) ermittelten ausschließlich den Gesamt-CLA-Gehalt, werteten hierzu jedoch nur die gaschromatographisch ermittelte Summe aus c9,t11-, t8,c10- und t7,c9-C18:2 aus. Wie aus den Abbildungen 4.20 und 4.21 ersichtlich ist, unterliegen die Mittelwerte starken Schwankungen, was besonders auf die Unterschiede der einzelnen Patienten hindeutet. Wie für den Gesamt-CLA-Gehalt bereits diskutiert, sind Unterschiede hier eher auf die physiologischen Bedingungen einzelner Patientinnen zurückzuführen als tatsächliche Unterschiede zwischen den Geweben.

Niedrigere CLA-Gehalte können zu erhöhten PG-Gehalten führen und somit zur Tumorpromotion beitragen. Insbesondere c9,t11-C18:2 kann die Aktivität der PGH Synthase reduzieren und so die Bildung von PG reduzieren (BULGARELLA et al., 2001). Aus diesem Grund wurden zusätzlich die ausgewählten Prostaglandine bestimmt. Hinsichtlich der Ergebnisse der Prostaglandingehalte liegen Literaturangaben leicht über den eigenen Ergebnissen (s. Tab 4.8). Die PG-Gehalte sind mit Angabe der Minimal- und Maximalwerte dargestellt.

Tab. 4.8 Literaturangaben zu PG-Gehalten (ng/g) in Humangewebe

Literatur	Gewebe	PGE ₂	PGD ₂	PGF _{2α}
WATSON et al. (1984)	Mammatumor	7-762	n.a. *)	3-475
BAUKNECHT et al. (1985)	Ovartumor	17-515	n.a.	2-43
BENNETT et al. (1987)	Magentumor	140-480	11-280	15-140
	Magenfett	24-66	8-63	12-55

*) n.a. = nicht angegeben

Dies kann daran liegen, dass die untersuchten Gewebe unterschiedlichen Bereichen des menschlichen Körpers entstammen. In Anbetracht der Tatsache, dass sich die Werte von Mamma- und Ovarialgeweben nicht sehr voneinander unterscheiden, erscheint dies jedoch weniger wahrscheinlich. Viel mehr werden die Unterschiede in den verschiedenen Bestimmungsmethoden und vor allem im Umgang mit den Geweben liegen.

BENNETT et al. (1987) untersuchten frisch entnommenes Gewebe. Das in dieser Arbeit untersuchte Gewebe lagerte bereits bis zu 1½ Jahren bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Bei dieser tiefen Temperatur ist zwar nicht mehr mit einer Enzymaktivität zu rechnen, wobei die Gewebe jedoch nach Sektion im Krankenhaus zunächst im Kühlschrank lagerten, so dass bei den sehr instabilen Eicosanoiden über diesen Zeitraum eine Abnahme des Gehaltes möglich wäre. Um dies zu belegen, müsste die Bestimmung der oxidativen Abbauprodukte der Eicosanoide erfolgen. Ein Hinweis hierauf gibt der höhere Gehalt an $\text{PGF}_{2\alpha}$, das bereits ein Oxidationsprodukt der beiden anderen PG darstellt (s. Kap. 1.2). Weiterhin konnte eine mögliche Medikamentierung der Patientinnen nicht berücksichtigt werden, die in einem erheblichen Maße eine Veränderung der Fettsäure- und PG-Muster bewirken könnte. So blockiert z.B. Aspirin, ein bekanntes Schmerzmittel, die PG-Biosynthese durch Inhibition der COX (FORTH et al., 1997), wodurch der PG-Gehalt in den Geweben sinkt, der Arachidonsäuregehalt dagegen steigen würde.

Die hohen Eicosanoid-Gehalte im tumorinfiltrierten Netz sind durch die Andersartigkeit des Gewebes erklärbar. Diskutiert werden könnte ebenfalls eine deutlich höhere Aktivität der entsprechenden Enzyme oder ein entsprechend höherer Gehalt des Ausgangssubstrats.

4.4 Einfluss einer TFA-reichen Ernährung auf CLA

Da der Gehalt von $c9,\omega11\text{-C18:2}$ in biologischen Matrices ein konstantes Verhältnis zum Gehalt der TFA zeigte und in seiner Höhe nur mit seiner Bildung im Pansen von Wiederkäuern nicht erklärt werden konnte, wurde eine Bildung des Hauptisomers durch Desaturierung aus der trans-Vaccensäure vermutet (vgl. Kap. 4.2). In der Brustdrüse von laktierenden Kühen konnte dies bereits nachgewiesen werden (GRIINARI et al., 2000). Um die Bildung von CLA aus TFA auch für den menschlichen Organismus zu zeigen, wurde in einer Interventionsstudie mit fünf Probanden der Einfluss einer trans-Fettsäure reichen Ernährung (mittels einer TFA-reichen Margarine) die Bildung von CLA-Isomeren in unterschiedlichen Lipidklassen von menschlichen Plasma untersucht (s. Kap. 2.5). Die Daten zu den Patienten und die Aufnahme einzelner Nährstoffe sowie die berechnete kalorische Energie finden sich im Anhang 6.5. Die FSME-Zusammensetzung und CLA-Isomerenverteilung der Margarine, die für diese Studie verwendet wurde, ist in Anhang 6.5 dargestellt.

Bei den Plasmaproben wurden zunächst die relativen Gehalte der Fettsäuregruppen in den unterschiedlichen Lipidklassen zu Beginn der Studie ermittelt. Die in Abb. 4.23 gezeigten Ergebnisse stellen die jeweiligen Mittelwerte aus den Plasmaproben der fünf Probanden dar. Wie erwartet enthalten die CE und PL mit etwa 60 bzw. 40 % hohe Gehalte an PUFA, während der Anteil von MUFA in den TG mit ca. 50 % den höchsten Gehalt ausmacht. Etwa 1 % ist der CLA-Gehalt in den TG, während er in den PL mit etwa 0,5 % nur halb so hoch ist. Eine ähnliche Verteilung auf höherem Niveau (ca. 1,6 % verglichen mit etwa 0,8 %) ist für die TFA zu erkennen.

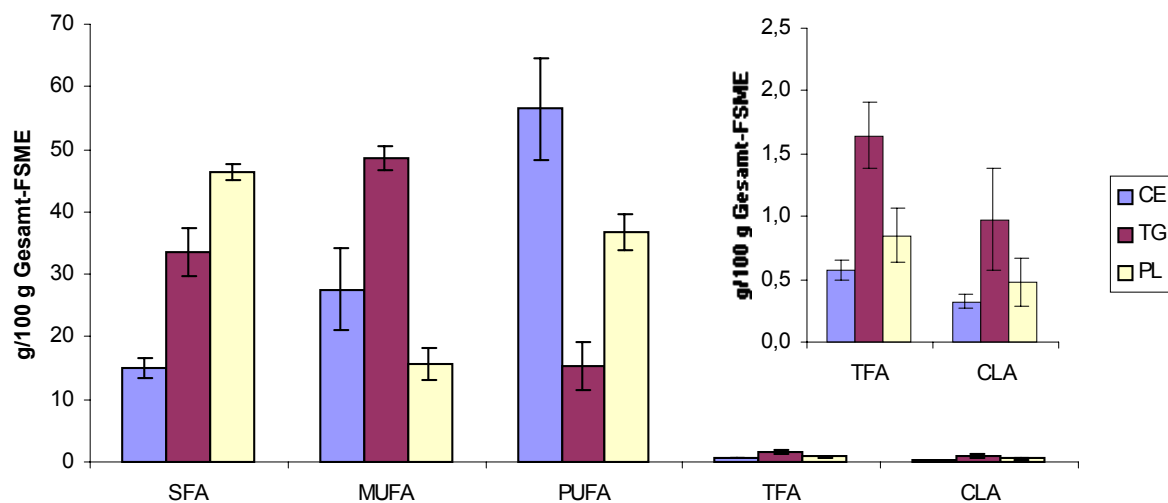


Abb. 4.23 Gehalte von Fettsäuregruppen (g/100 g Gesamt-FSME) in unterschiedlichen Lipidklassen von Plasma (n=5)

Dieses bereits für Fleisch besprochene konstante Verhältnis von TFA zu CLA (s. Kap. 4.2) lässt sich damit durch die genannten Ergebnisse bestätigen. Die ermittelte Korrelationsgerade wird in Abb. 4.24 gezeigt. Sie zeigt die Korrelation zwischen den TFA und CLA-Gehalten in allen untersuchten Lipidklassen im Plasma. Der Koeffizient wurde zu 0,8232 (Bestimmtheitsmaß: 0,6809) bestimmt, was auf eine deutliche Korrelation von TFA zu CLA hindeutet.

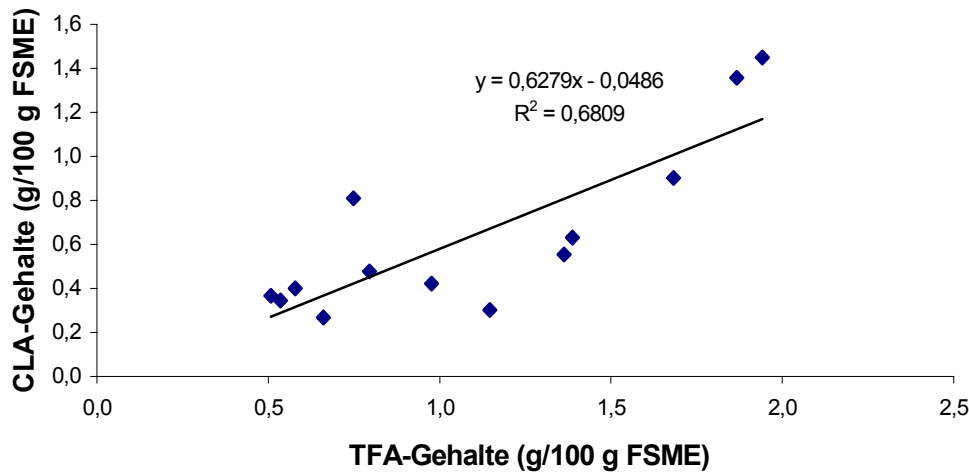


Abb. 4.24 Korrelationsgerade zwischen CLA und TFA in allen Lipidklassen im Plasma (g/100 g FSME)

Abb. 4.25 zeigt den Verlauf der CLA-Gehalte in den PL während der Studie. Aufgrund von Aufarbeitungsverlusten treten in den folgenden Abbildungen über die CLA-Gehalte vereinzelt Lücken auf. Für einen Patienten konnten jedoch nur die relativen Gehalte auf das Fett bezogen angegeben werden, da hier kein IS verwendet wurde. Aufgrund der geringen Anzahl von Probanden, der unterschiedlichen Ernährungsgewohnheiten einzelner Probanden vor der Studie (hoher Konsum an Milchprodukten führt zu höheren trans-Vaccensäure- und CLA-Gehalten im Blut) sowie Unterschieden der Probanden hinsichtlich Gewicht und Größe sowie des Stoffwechsels (s. Anhang 6.5) wurde auf die Bildung von Mittelwerten verzichtet und dafür die Verläufe einzelner Patienten verfolgt. Für alle Patienten ist ein Anstieg von Gesamt-CLA nach Beginn der TFA-Aufnahme (6. Tag) von etwa 2 µg/mL auf bis zu 9 µg/mL Plasma zu erkennen, wobei dieser je nach Proband unterschiedlich ausfällt. Während die Probanden 6 und 8 diesen Anstieg zeitlich schnell der TFA-Aufnahme folgend zeigen, tritt dies bei Patient 4 deutlich später auf. Dies gilt ebenso für den zweiten Teil der Studie mit Beginn des 21. Tages (s. Abb. 4.25). Unterschiede sind auch in der Höhe des Anstieges sichtbar. So beträgt dieser beim Probanden 7 nur ca. das Doppelte, während die anderen Personen einen drei- bis vierfachen Anstieg zeigen. Einen im Vergleich zu den anderen Patienten unterschiedlichen Verlauf zeigt auch Proband 6 nach dem erfolgten Anstieg am Beginn der TFA-Aufnahme. Statt auf dem Niveau zu bleiben geht der CLA-Gehalt relativ schnell wieder zurück.

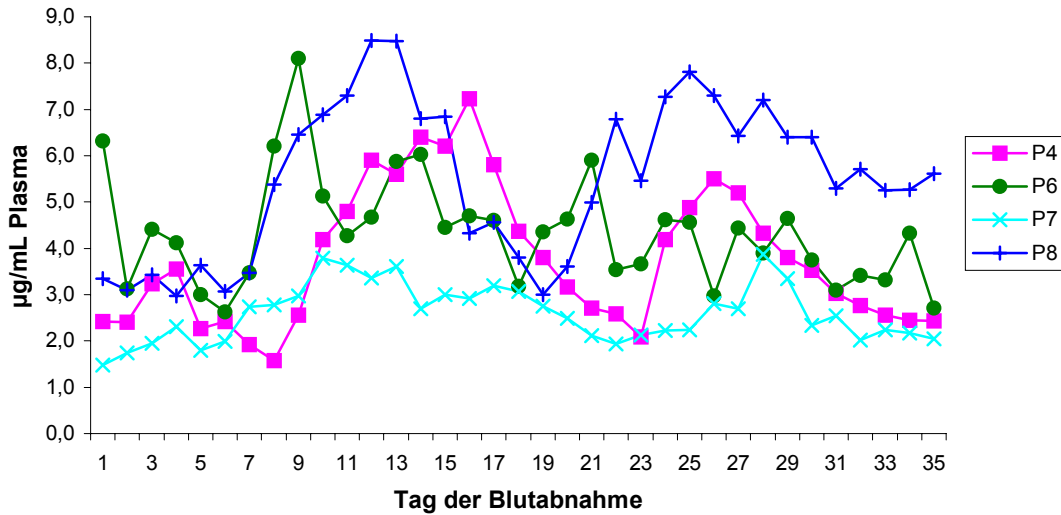


Abb. 4.25 CLA-Gehalte ($\mu\text{g/mL}$ Plasma) in den PL der Probanden im Untersuchungszeitraum (P = Proband)

Einen ähnlichen Verlauf zeigen die ermittelten CLA-Gehalte in den TG (s. Abb. 4.26). Da die TG den größten Anteil der CLA enthalten, fällt hier der Anstieg mit knapp der zweifachen Menge etwas geringer aus. Insgesamt betrachtet, liegt der CLA-Gehalt doppelt so hoch wie in den PL. Jedoch auch in dieser Lipidklasse wird der Unterschied einzelner Probanden deutlich, was den zeitlichen Beginn des Anstiegs, den quantitativen Anstieg insgesamt und eine mögliche Adaption oder Änderung des Stoffwechsels betrifft. So zeigt wieder Proband 8 zeitlich schnell auf die TFA-Aufnahme folgend den CLA-Anstieg, während dies bei den anderen Probanden später erfolgt.

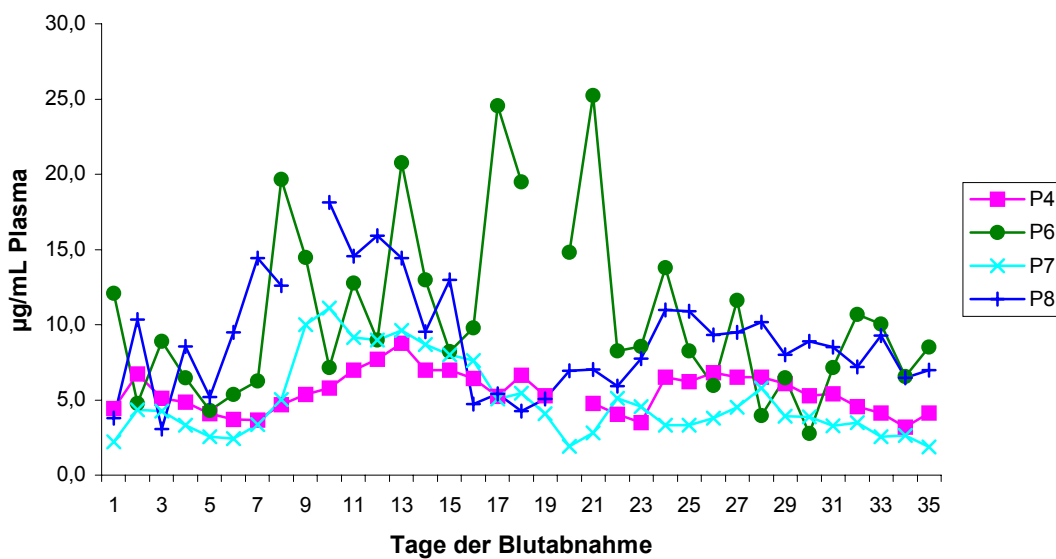


Abb. 4.26 CLA-Gehalte ($\mu\text{g/mL}$ Plasma) in den TG der Probanden im Untersuchungszeitraum (P = Proband)

Die unterschiedliche Kinetik wird auch im Verlauf der CE deutlich (s. Abb. 4.27). Auch hier zeigt Proband 8 den schnellsten Anstieg an Gesamt-CLA verglichen mit den anderen Probanden und gleichzeitig auch mit Proband 4 den größten Anstieg. Proband 6 zeigt wie in den anderen Lipidklassen auch hier einen anderen Verlauf.

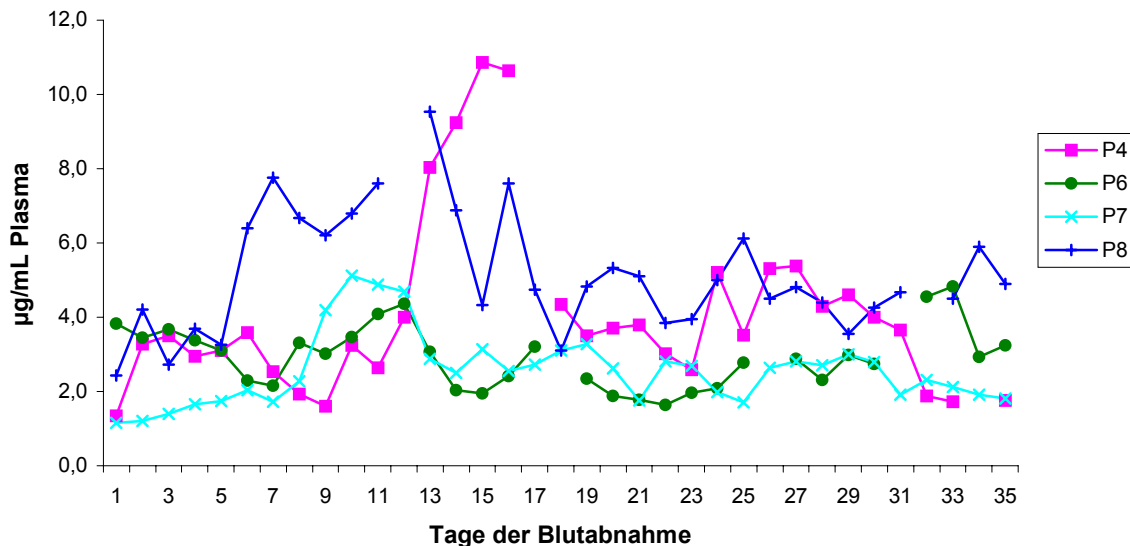


Abb. 4.27 CLA-Gehalte ($\mu\text{g/mL}$ Plasma) in den CE der Probanden im Untersuchungszeitraum (P = Proband)

Um nochmals die Korrelation zwischen TFA und CLA-Gehalt hervorzuheben, wird in Abb. 4.28 der Verlauf der TFA-Gehalte im Plasma der untersuchten Probanden im Untersuchungszeitraum am Beispiel der PL dargestellt. Der Anstieg der TFA erfolgt bei allen Probanden schnell, zudem annähernd gleich hoch. Auch im Zeitraum mit der halben TFA-Aufnahmemenge zeigen alle Probanden untereinander ähnliche TFA-Gehalte im Plasma. Insgesamt steigt der TFA-Gehalt von etwa $5 \mu\text{g/mL}$ auf ca. $40 \mu\text{g/mL}$ Plasma an (volle TFA-Aufnahmemenge; 48 g; s. Anhang 6.5), während im mit der Halben TFA-Aufnahmemenge der Anstieg auf 20 bis 25 (max. 40) $\mu\text{g/mL}$ Plasma erfolgt. Nach der Aufnahme der TFA-reichen Margarine erfolgte der Anstieg im TFA-Gehalt in den Lipidklassen im Plasma. Verglichen mit den TFA-Gehalten zeigen die CLA-Gehalte, wie bereits erwähnt, zeitlich versetzte Anstiege.

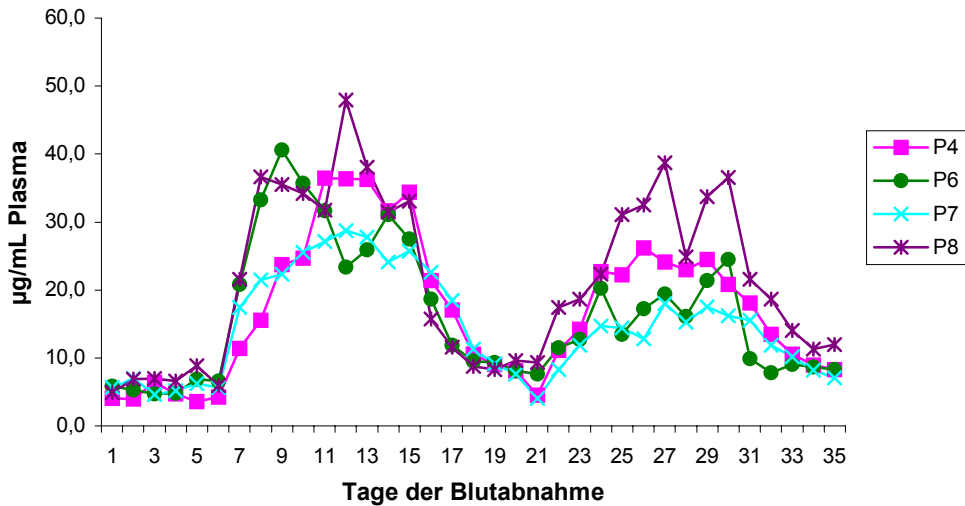


Abb. 4.28 TFA-Gehalte ($\mu\text{g/mL}$ Plasma) in den PL der Probanden im Untersuchungszeitraum (P = Proband)

Mit Hilfe der optimierten Silberionen-HPLC wurden in dieser Studie ebenfalls die Einflüsse der TFA-reichen Margarine auf das CLA-Isomerenmuster untersucht. Um zunächst die Entwicklung der Precursor, trans-C18:1-Isomere, zu erhalten wurden die Plasmaproben mittels GC-FID auf ihren Gehalt an den t-C18:1-Isomeren mit den Positionen 6-8, 9, 10 und 11 ausgewertet. Am Beispiel der PL von Proband 4 ist deren Verlauf in Abb. 4.29 dargestellt. Sofort nach Aufnahme der TFA-Margarine zeigte sich ein deutlicher Anstieg aller genannten t-C18:1-Isomere. Nach Rückkehr zur TFA-freien Ernährung wurde annähernd der Ursprungsgehalt erhalten. Während der halben TFA-Aufnahmemenge zeigte sich ein ähnliches Verhalten mit der Hälfte des TFA-Gehaltes.

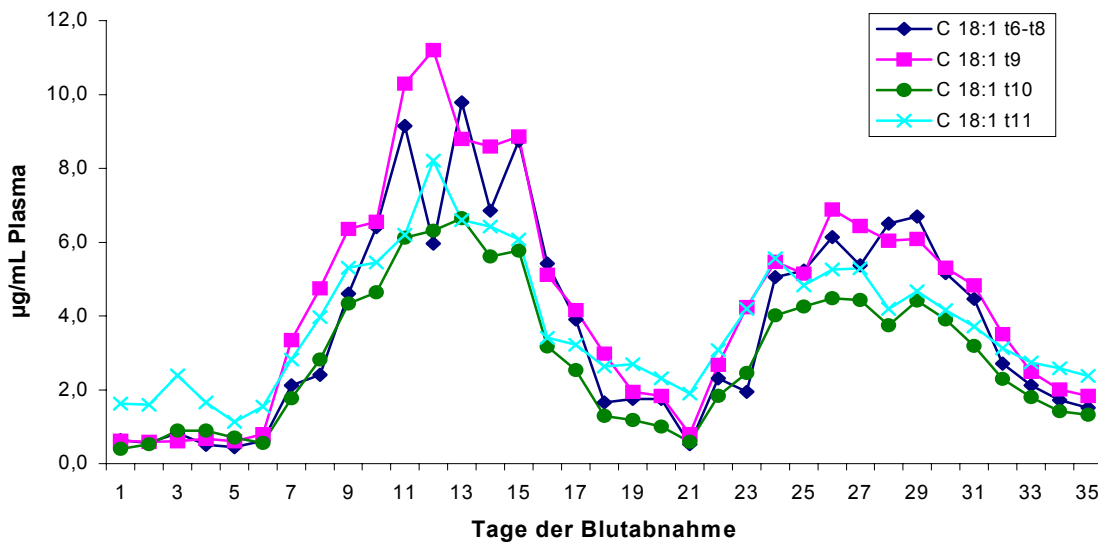


Abb. 4.29 Gehalte der t-C18:1-Isomere ($\mu\text{g/mL}$ Plasma) im Untersuchungszeitraum in den PL von Proband P4

Erkennbar ist hier auch der im Vergleich zu den anderen Isomeren erhöhte Gehalt an trans-Vaccensäure in den PL. Aufgrund des Gehaltes von C15:0 (Ergebnisse nicht gezeigt), die einen Indikator für den Konsum von Milchprodukten darstellt (SMEDMAN et al., 1999), ist der erhöhte Gehalt an t11-C18:1 auf den Verzehr von Milch und/oder Milchprodukten zurückzuführen. Auch diese Fettsäure ist hier im Vergleich zu anderen Lebensmitteln erhöht vorhanden. Der Anfangsgehalt der trans-Vaccensäure konnte in allen Lipidklassen festgestellt werden (s. Anhang 6.15).

Den Einfluss der TFA-reichen Ernährung auf die CLA-Isomere c9,t11- und t7,c9-C18:2 zeigen die Abb. 4.30 bis 4.35. Analog dem Verlauf für Gesamt-CLA verhalten sich die genannten Isomere. Nach Aufnahme der TFA-reichen Margarine ist in allen Lipidklassen ein Anstieg erkennbar. Der Verlauf der Gehalte im Plasma der Probanden bezüglich der Anstiegshöhe, des Beginns des Anstieges sowie Rückganges ist je nach Proband unterschiedlich. Proband 6 zeigt in den TG und PL erneut nach zwei bis vier Tagen einen Rückgang der Gehalte der beiden Isomere aufgrund einer möglichen Änderung des Stoffwechsels, wobei die Schwankungen des c9,t11-Isomers größer sind als die des t7,c9-Isomers. Auch bei den anderen Probanden sind diese Schwankungen größer.

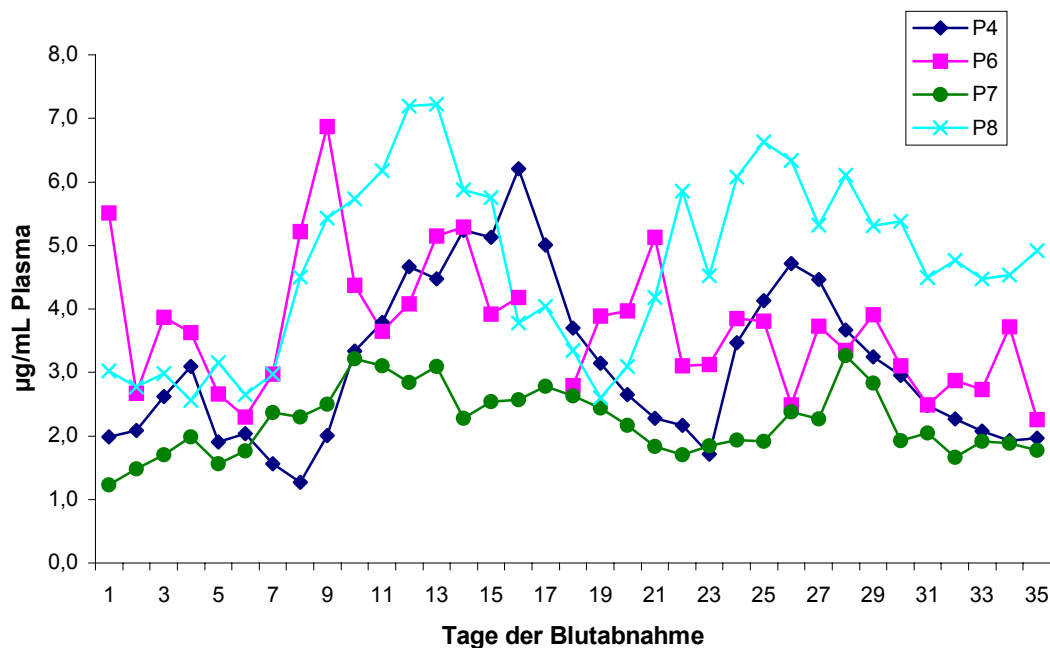


Abb. 4.30 Gehalte von c9,t11-C18:2 ($\mu\text{g/mL}$ Plasma) in den PL der Probanden im Untersuchungszeitraum (P = Proband)

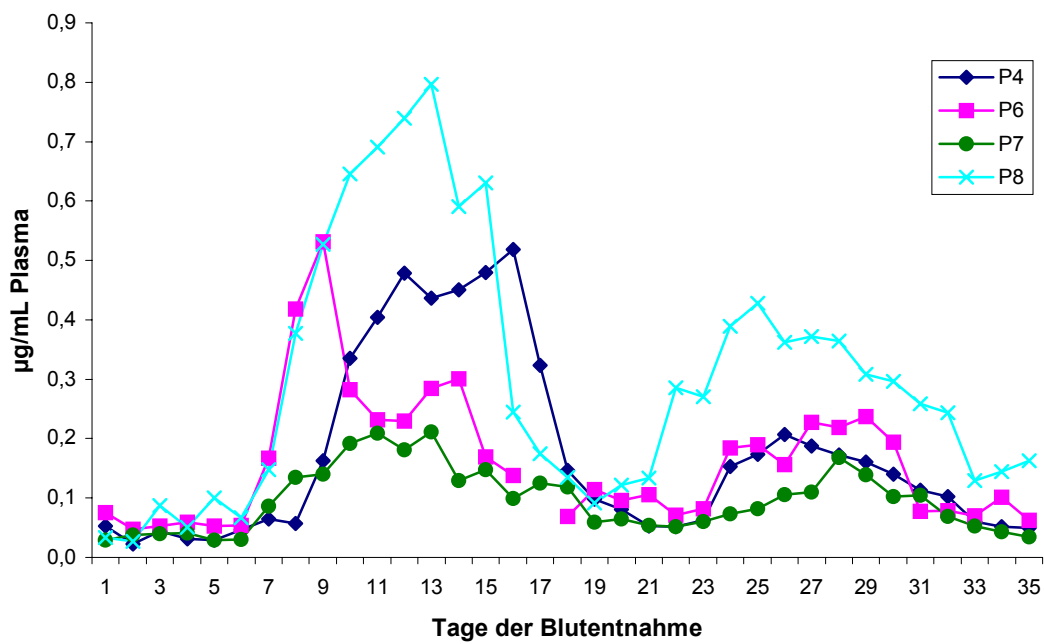


Abb. 4.31 Gehalte von t7,c9-C18:2 (µg/mL Plasma) in den PL der Probanden im Untersuchungszeitraum (P = Proband)

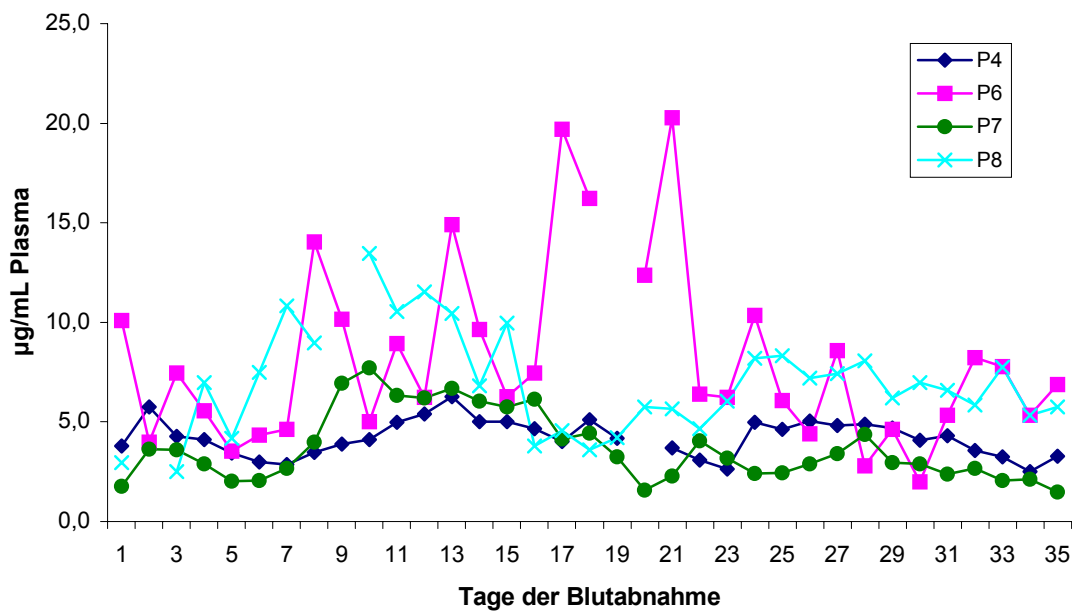


Abb. 4.32 Gehalte von c9,t11-C18:2 (µg/mL Plasma) in den TG der Probanden im Untersuchungszeitraum (P = Proband)

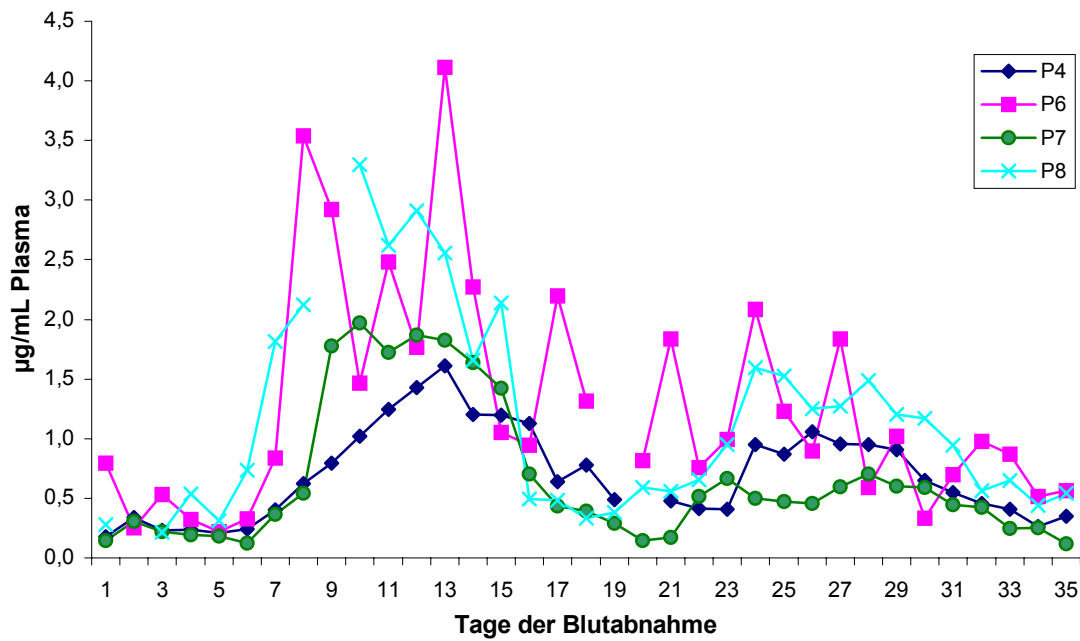


Abb. 4.33 Gehalte von t7,c9-C18:2 (µg/mL Plasma) in den TG der Probanden im Untersuchungszeitraum (P = Proband)

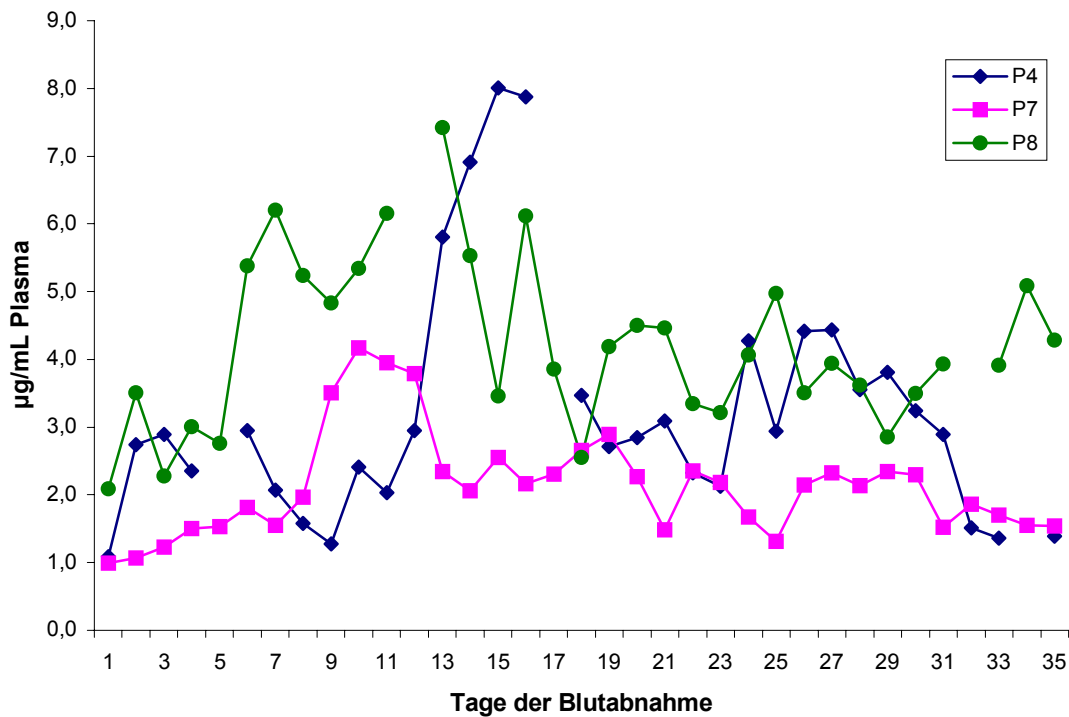


Abb. 4.34 Gehalte von c9,t11-C18:2 (µg/mL Plasma) in den CE der Probanden im Untersuchungszeitraum

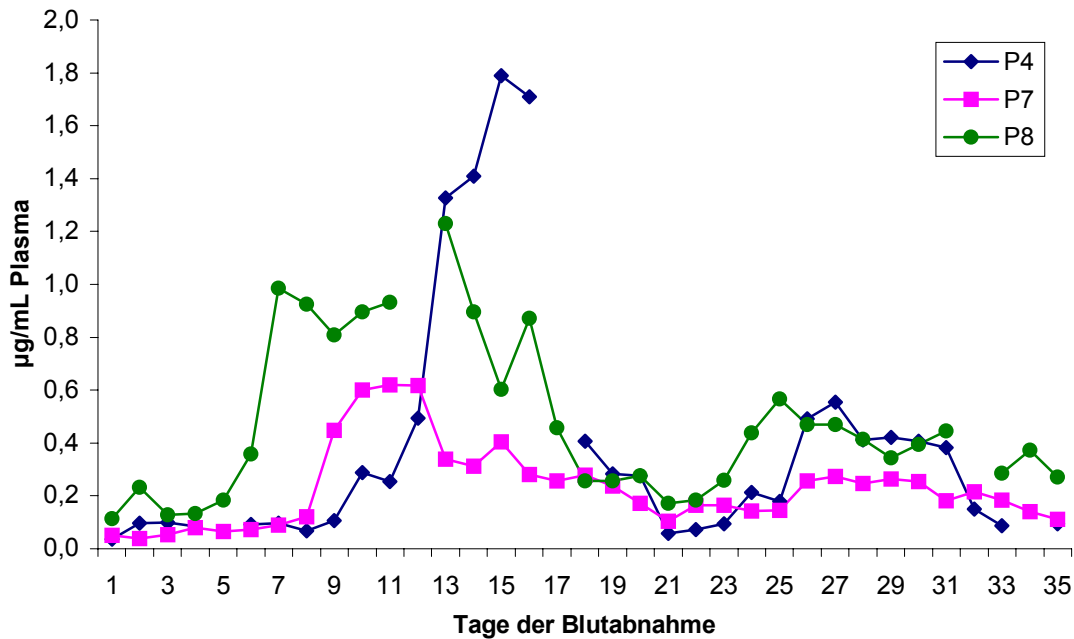


Abb. 4.35 Gehalte von t7,c9-C18:2 ($\mu\text{g/mL}$ Plasma) in den CE der Probanden im Untersuchungszeitraum

Auf die Gehalte der anderen CLA-Isomere hatte die TFA-reiche Ernährung keinen erkennbaren Einfluss (s. Abb. 4.36). Die dargestellten CLA-Isomere zeigen keine Tendenz zur Änderung ihres Gehaltes aufgrund der TFA-reichen Ernährung.

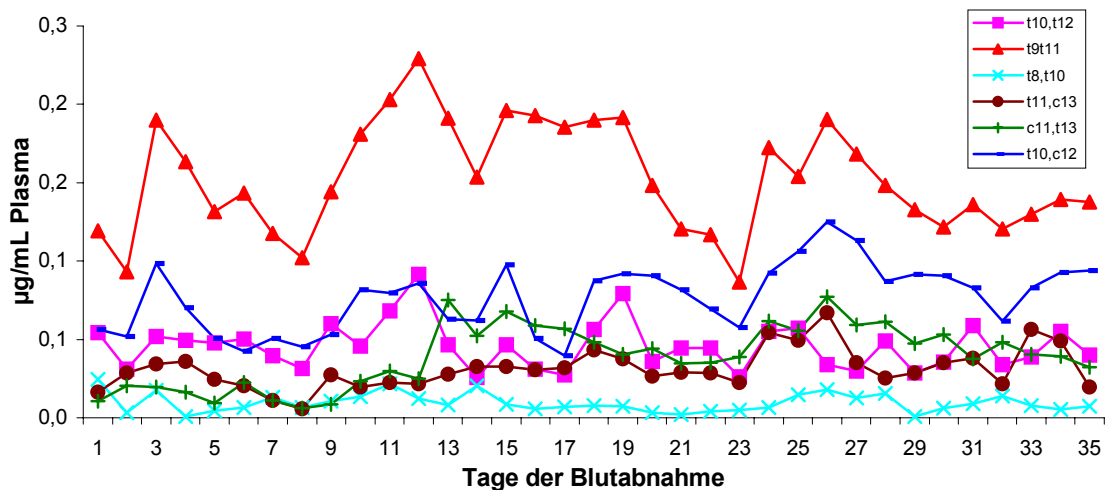


Abb. 4.36 Gehalte anderer CLA-Isomere ($\mu\text{g/mL}$ Plasma) in den PL von Proband 4 im Verlauf des Untersuchungszeitraumes

Hinsichtlich des absoluten Gehaltes von c9,t11- und t7,c9-C18:2 konnte in allen Lipidklassen und bei allen Probanden ein Anstieg ermittelt werden. Bei Betrachtung der relativen CLA-Isomerenmuster (bezogen auf Gesamt-CLA) ergibt sich jedoch ein etwas anderes Ergebnis.

Während auch der relative t7,c9-C18:2-Gehalt im Verlauf der TFA-reichen Ernährung deutlich anstieg, nahm der relative Gehalt von c9,t11-C18:2 ab (s. Abb. 4.37 - 4.38). Dies betraf wiederum alle Probanden und alle Lipidklassen in gleichem Maße, weshalb die Darstellung einen Mittelwert der Gehalte aller fünf Probanden zeigt. Die Abnahme des einen bzw. der Anstieg des anderen Isomers fällt in der TG-Fraktion am stärksten aus, und ist in den PL abgeschwächt ebenfalls erkennbar. Dies ist ein Beispiel dafür, dass es nicht immer ausreichend ist, das relative Fettsäuremuster bzw. die relativen Gehalte einzelner FSME zu betrachten.

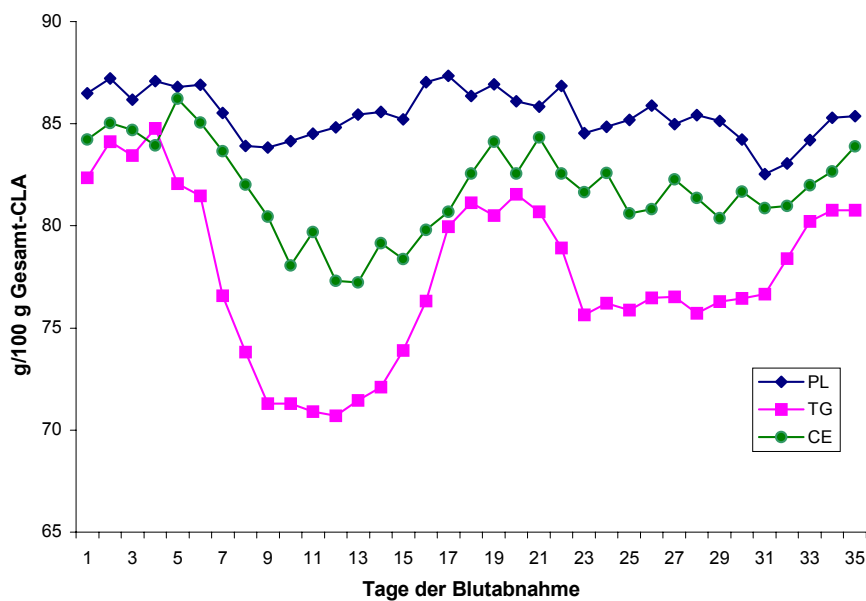


Abb. 4.37 Gemittelte Gehalte (n=5) von c9,t11-C18:2 (g/100 g Gesamt-CLA) in den untersuchten Lipidklassen der Probanden im Untersuchungszeitraum

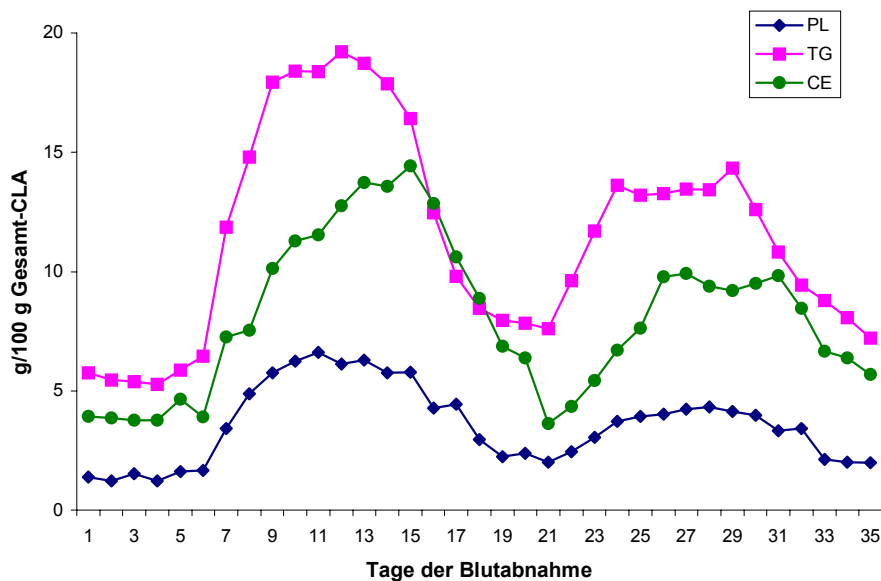


Abb. 4.38 Gemittelte Gehalte (n=5) von t7,c9-C18:2 (g/100 g Gesamt-CLA) in den untersuchten Lipidklassen der Probanden im Untersuchungszeitraum

Mit mehr als 400 mg/g Fett in Margarine entsprechend 42% stellt die Gruppe der TFA den höchsten Anteil, gefolgt von den MUFA und SFA mit 22,3 und 31,4 %. Entsprechend gering ist der Gehalt an PUFA mit 3,6 %, während der Gehalt von CLA mit 0,1 % in dieser Studie vernachlässigbar klein ist. Für die Bildung von CLA-Isomeren aus TFA ist darüber hinaus das Vorhandensein bestimmter trans-C18:1-Isomeren notwendig. Die Ergebnisse zeigen eine Verteilung entsprechend einer Gausschen Kurve, wie sie typisch für teilgehärtete Margarinen ist (s. Anhang 6.5). Mit über 10 % an den Gesamtfettsäuren macht die Elaidinsäure den Hauptanteil aus. Hinsichtlich der Δ^9 -Desaturierung von trans-C18:1-Fettsäuren zur Bildung von CLA-Isomeren sind besonders t7- und t11-C18:1 interessant. Da trotz Verwendung von 100-m-GC-Säulen mit einer optimierten gaschromatographischen Analytik der trans-Isomeren von C18:1 keine Trennung der Positionsisomere t6-t8-C18:1 möglich ist (PRECHT und MOLKENTIN, 1995), wurden diese Isomere als Summe angegeben und machen in der Margarine fast 7 % der Gesamt-FSME aus. Der Gehalt an trans-Vaccensäure war mit ca. 8 % ähnlich hoch.

Innerhalb der CLA-Isomerenverteilung macht die c/t-Gruppe in der eingesetzten TFA-Margarine (s. Anhang 6.5) den größten Anteil aus, wobei einzelne Isomere innerhalb der Gruppen annähernd gleich verteilt sind. Sowohl bei den CLA-Isomeren 9,11 als auch 11,13 wurden in der c/t-Gruppe beide Konfigurationsisomere ermittelt. Aufgrund der ähnlich großen Gehalte der Konfigurationsisomere wurde jedoch eine für eine getrennte Auswertung nicht brauchbare chromatographische Trennung erhalten, weshalb sie gemeinsam ausgewertet wurden. Bemerkenswert ist zudem, dass t7,c9-C18:2 in der Margarine nicht nachweisbar war.

Verglichen mit der eigenen Ernährungsstudie verwendeten SALMINEN et al. (1998) ein gehärtetes Öl mit annähernd 35 % t6-t8-C18:1, 22 % Elaidin- und 12 % trans-Vaccensäure. Jedoch fand dies bei den Auswertungen der dort untersuchten Plasmaproben keine Berücksichtigung. Der CLA-Gehalt des Öles wurde nicht angegeben, jedoch wurde der Gehalt von CLA der Nahrung in der TFA-Gruppe ermittelt und betrug nur 0,04 %. In der Fütterungsstudie von GLÄSER et al. (2000) wurden im verwendeten Futter zwei trans-C18:1 Fraktionen bestimmt. Der Gehalt der ersten Fraktion (t6-t9-C18:1) betrug 1,76 g/kg Futter mit Zusatz des teilgehärteten Fettes, und der Gehalt der zweiten Fraktion (t10-/t11-C18:1) machte 1,39 g/kg des Futters aus. Der CLA-Gehalt betrug hier 0,01 g/kg Futter. Beide Autoren machen jedoch keine Angaben zur Zusammensetzung der CLA-Fraktion.

In allen untersuchten Lipidklassen des Plasmas aller Probanden konnte ein Anstieg des CLA-Gehaltes nach TFA Aufnahme festgestellt werden, der sich bei Proband 6 jedoch relativ schnell änderte. Dies deutet auf eine kurzfristige und schnelle Umstellung des Stoffwechsels bei diesem Probanden hin, wie dies z.B. für quantitative und qualitative Unterversorgung mit Proteinen und einhergehender gedrosselter Produktion proteolytischer Pankreas- und Leberenzyme oder bei bestimmten Voraussetzungen für die Oxidation der Palmitinsäure bereits festgestellt worden ist (ELMADFA und LEITZMANN, 1998). Unterstützt wird diese Hypothese durch die Daten zum Probanden, der mit einer Körpergröße von 1,90 m ein im Vergleich zu den anderen Personen geringes Körpergewicht von nur 72 kg besitzt.

Da die Bildung von CLA aus TFA durch eine Δ^9 -Desaturierung erfolgt (GRIINARI et al., 1997; SALMINEN et al., 1998; SANTORA et al., 2000; GLÄSER et al., 2000) erscheinen unterschiedliche Aktivitäten des Enzyms Stearoyl-Co-Desaturase (= Δ^9 -Desaturase) für den unterschiedlichen Verlauf von CLA im Plasma der Probanden verantwortlich zu sein. Unterschiedliche Aktivitäten dieses Enzyms in unterschiedlichen Geweben konnten auch GRIINARI et al. (1999) feststellen, die für Fettgewebe die höchste Aktivität ermittelten. Dass die Bildung von CLA nicht über eine Isomerisierung der Linolsäure erfolgt, wird deutlich, wenn die Gehalte der Linolsäure im Blutplasma der Probanden betrachtet wird (s. Anhang 6.5). Mit vier bis fünf % Linolsäure bezogen auf die zugeführte kalorische Energie blieb dieser Gehalt in allen Teilen der Studie annähernd konstant. Damit werden die Ergebnisse von HERBEL et al. (1998) bestätigt, die selbst durch eine linolsäurereiche Ernährung keine Erhöhung des CLA-Gehaltes feststellen konnten, obwohl BROWN und MOORE (1960) das Vorkommen des für die Biokonvertierung im Pansen verantwortliche Mikroorganismus *Butyrivibrio fibrisolvens* auch in menschlichen Faeces beschrieben. SALMINEN et al. (1998) schlossen aus, dass CLA durch Mikroorganismen im menschlichen Verdauungssystem aus t11-C18:1 gebildet wird, da die Aufnahme über den Dickdarm nur sehr schwer möglich ist und nicht die hohen CLA-Gehalte erklären kann. GLÄSER et al. (2000) führten in ihrer Studie, die einen relativ geringen Anteil von Linolsäure aufwies, die Erhöhung des CLA-Gehaltes ebenfalls auf die endogene Δ^9 -Desaturierung der trans-Vaccensäure zurückführten.

Mit ca. 12,8 % TFA bezogen auf die zugeführte kalorische Energie mit der vollen TFA-Aufnahmemenge und ca. 8,6 % TFA mit der halben TFA-Aufnahmemenge lag der Anteil verglichen mit anderen Studien höher. Auch der Anteil an Fett insgesamt lag mit ca. 46,9 bzw. 40,6 % höher als in anderen Studien und höher als der von der DFG empfohlene Fettanteil von 30 bis 35 %. VIDGREN et al. (1998) ersetzten in ihrer Studie zur TFA-Integration in verschiedene Lipidklassen des menschlichen Plasmas nur 5 % Nicht-TFA-Fett durch TFA-Fett, erhielten bei ihren Ergebnissen jedoch mit den gezeigten Ergebnissen übereinstimmende Resultate.

Der Fettanteil lag bei 37 % bezogen auf die zugeführte kalorische Energie. NESTEL et al. (1992) verwendeten 7 % TFA in ihrer Studie. Bei der Studie von VIDGREN et al. (1998), die als cross-over Studie angelegt war, zeigte sich zusätzlich nach Einnahme der Normaldiät ein Rückgang des TFA-Gehaltes. Auch dies konnte in den eigenen Untersuchungen bestätigt werden (s. Abb. 4.29). Da jedoch die derzeitige Aufnahme für TFA von 2,3 g TFA/Tag für Männer und 1,9 g TFA/Tag für Frauen (FRITSCHE und STEINHART, 1997) durch die Menge an TFA in der Studie deutlich überschritten wurde, ist es notwendig, die Bildung von CLA durch kleinere Mengen TFA zu überprüfen.

Die in den TG erhöhten CLA Gehalte verglichen mit den anderen Lipidklassen deuten nach bisherigen Erkenntnissen auf einen Zusammenhang mit dem Lipidstoffwechsel hin (IP et al., 1996). Zur gleichen Erkenntnis kommen auch SANTORA et al. (2000). Sie zeigten eine Erhöhung des CLA-Gehaltes durch Fütterung von trans-Vaccensäure in den TG im Fettgewebe, jedoch nicht in den PL. Dies waren jedoch Untersuchungen an Mäusen, weshalb die Ergebnisse nicht unbedingt vergleichbar sind.

Auch die Struktur von CLA (s. Kap. 1) gibt hierzu mögliche Hinweise. Eine Überlagerung der drei-dimensionalen Molekülstruktur von CLA ergab eine starke Übereinstimmung mit der Ölsäure. Da diese bevorzugt in die TG eingebaut wird, ergab sich in der Konsequenz der ebenfalls bevorzugte Einbau von CLA in diese Lipidfraktion (BANNI et al., 1999b). EMKEN et al. (1986) konnten dagegen keine Desaturierung von deuteriummarkierter trans-Vaccensäure im Plasma feststellen. Sie gaben diese Substanz jungen Männern jedoch nur in einer einmaligen Dosis (7 - 8 g).

Da die Wahl der weiteren Lebensmittel für die Probanden in dieser Studie freigestellt war, kann dies ebenfalls Einfluss auf den CLA-Gehalt ausüben. Insbesondere sind dies Milch und Milchprodukte sowie Fleisch, die verglichen mit anderen Lebensmitteln erhöhte CLA-Gehalte aufweisen (s. Kap. 4.2). Plasmalipide zeigen allgemein innerhalb kurzer Zeit den direkten Einfluss von Nahrungslipiden. Durch die dargestellten Gehalte von CLA an allen Blutabnahmetagen lässt sich dieser Einfluss jedoch vernachlässigen.

Innerhalb der CLA-Isomerenuntersuchungen zeigten sowohl c9,t11- als auch t7,c9-C18:2 einen deutlichen Anstieg nach TFA-Verzehr. Möglicherweise haben auch die Untersuchungen von SALMINEN et al. (1998) und GLÄSER et al. (2000) den Anstieg des t7,c9-C18:2-Isomers gezeigt, jedoch haben die Autoren, aufgrund der gaschromatographisch nicht erfolgten Trennung, die t7,c9- und c9t11-C18:2-Isomere gemeinsam ausgewertet.

Aufgrund dieser Ergebnisse, die eine Bildung anderer Isomere durch Isomerisierungen ausschließt und der Tatsache, dass die Margarine kein t7,c9-C18:2-Isomer, jedoch hohe Anteile der t6-t8-C18:1-Isomere enthielt, ist der Anstieg des t7,c9-C18:2-Isomers nach Aufnahme der TFA-reichen Margarine vermutlich auf die Δ^9 -Desaturierung des t7-C18:1-Isomers zurückzuführen. Insofern sind die Ergebnisse von POLLARD et al. (1980) bestätigt, die eine Desaturierung von t7- und t11- ungesättigten Monoenfettsäuren in Lebermikrosomen von Ratten bestimmten. Für den menschlichen Organismus konnte dies jedoch bisher nicht bestätigt werden.

4.5 Fazit und Ausblick

Mit der optimierten Ag⁺-HPLC Methode und etablierten GC-Methoden wurden CLA-Gehalte und CLA-Isomerenverteilungen in verschiedenen biologischen Matrices erfolgreich bestimmt. Die dargestellten Ergebnisse zeigen, dass sowohl der CLA-Gehalt als auch die CLA-Isomerenverteilung wenig durch technologische Parameter bei der Käseherstellung, aber deutlich durch die Fütterung von Rindern und auch Nicht-Wiederkäuern wie Schweinen und den Gehalt und die Isomerenverteilung von TFA in der menschlichen Ernährung beeinflusst werden kann. Dieser zuletzt erwähnte Effekt verdeutlicht exemplarisch, dass die bisher erfolgte Beurteilung als Gesamt-TFA hinsichtlich physiologischer Effekte wenig relevante Informationen lieferte. Insbesondere gilt dies, da auch für TFA bereits eine Inhibierung der PG-Synthese diskutiert wurde (s. Kap. 4.3 und KOLETZKO et al., 1992). Darüber hinaus muss neben der tatsächlich aufgenommenen Menge an CLA von ca. 0,4 g /Tag (FRITSCHKE und STEINHART, 1998b) ein nicht unerheblicher Teil von CLA, der aus der t11- und t7-C18:1 desaturiert wird, addiert werden, da sowohl die mit der Nahrung aufgenommenen CLA als auch die im Organismus gebildeten CLA zu den physiologischen Wirkungen beitragen. SANTORA et al. (2000) nennen in diesem Zusammenhang einen Gehalt der um sechs- bis zehn-fach höher liegt als bisherige Schätzungen. Aufgrund der in diesem Abschnitt dargestellten Ergebnisse lässt sich auch der im Vergleich zu anderen CLA-Isomeren erhöhte Gehalt von t7,c9-C18:2 in Lebensmitteln erklären. Wie für die TFA gilt für CLA und seine Isomere der deutliche Hinweis auf die Durchführung von Studien mit Einzelisomeren, da bisherige Ergebnisse aus Studien mit CLA-Isomerengemischen z.T. widersprüchliche Ergebnisse lieferten (s. Kap. 1.2). Wünschenswert wäre für zukünftige Untersuchungen, die physiologischen Eigenschaften einzelner CLA-Isomere, insbesondere des t7,c9- als auch der gemischten c/t-Isomere von 11,13 zu untersuchen, da diese in nicht unerheblichen Mengen neben dem Hauptisomer auftreten. Dies gilt sowohl hinsichtlich möglicher Rezeptorbindungen von CLA-Isomeren im Zellkulturbereich als auch für Humanstudien. Um diese CLA-Isomere analytisch besser erfassen zu können, wäre es denkbar, neben der flüssigchromatographischen Analyse auf Silberionenphasen diese stationär auf GC-Säulen zu binden. Hiermit wäre die Möglichkeit gegeben, die für eine Komplexbildung geeigneten Silberionen mit einer hohen Trennbodenzahl, wie sie für GC-Säulen vorhanden ist, zu verknüpfen. Hier ist die Veröffentlichung von SAUERS (1960) zu nennen, der diesen Versuch bereits unternommen hat. Aufgrund von Instabilitäten bei hohen Temperaturen konnte er jedoch nur bei niedrigeren Temperaturen trennen. Eine Anpassung an höhere Temperaturbereiche, also eine Stabilisierung der Silberionen, wäre erforderlich. Eine andere Möglichkeit wäre die Verwendung anderer Metallionen in der HPLC, wie z.B. von SIOUFFI und TRAYNARD (1977) beschrieben.

5 Zusammenfassung

Die Quantifizierung von CLA in Lebensmitteln, Gewebe oder Plasmaproben umfasste in bisher durchgeführten Arbeiten lediglich die gaschromatographische Bestimmung des CLA-Hauptisomeres c9,t11-C18:2, obwohl daneben weitere geometrische und positionelle Isomere auftreten. Eine Erfassung einzelner Isomere gestaltete sich aufgrund mangelnder Trennleistung der GC-Bedingungen als schwierig. Ausgehend von einem CLA-Isomerenstandard und einer Probe aus Rinderfett, die beide mehr als 12 CLA-Isomere enthielten, wurde zunächst die Entwicklung und Optimierung der CLA-Isomerenanalytik verfolgt. Durch Kopplung zwei bis vier silberionenhaltiger HPLC-Säulen wurde eine bisher nicht erreichte Trennung von CLA-Isomeren erzielt. Die CLA-Isomere t12,t14-, t7,t9-, c/t12,14-, t11,c13-, c11,t13- sowie t7,c9-C18:2 wurden durch die Kombination von semipräparativer Ag⁺-HPLC, GC-MS und GC-FTIR sowie im Falle der gemischt konfigurierten 11,13-Isomere auch durch Anwendung von partieller Hydrazinreduktion identifiziert.

Mit dieser optimierten Methode wurden die CLA-Gehalte und CLA-Isomerenverteilungen zunächst in Milch, Milchprodukten und Fleisch hinsichtlich technologischer Bedingungen untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass Milchprodukte, die bei höheren und länger anhaltenden Temperaturen hergestellt werden, aufgrund von Isomerisierungsvorgängen signifikant höhere Gehalte der trans,trans-Isomeren im Vergleich zu Milch aufweisen. Unterschiede in den Gehalten einzelner CLA-Isomere ließen sich durch die unterschiedlichen Herstellungsbedingungen nicht nachweisen. Mit einem CLA-Gehalt von 0,56 % im Fleisch von weidegefütterten Ochsen konnte ein signifikant höherer Gehalt verglichen zum Fleisch silagegefütterter Ochsen ermittelt werden. Ebenfalls wurden signifikante Unterschiede im CLA-Isomerenmuster ermittelt, deren Hauptisomere c9,t11- und t7,c9-C18:2 jeweils in der silagegefütterten Gruppe höhere Gehalte aufwiesen.

Bei der Anwendung der CLA-Analytik auf zwei unterschiedliche menschliche Gewebearten zeigte sich eine positive Korrelation beim CLA-Gehalt von Mammafettgewebe zu Mammakrebsgewebe, während im Ovargewebe eine inverse Korrelation ermittelt wurde. Aufgrund der geringen Probenzahl ist jedoch eine Absicherung bzw. Überprüfung der Befunde notwendig. Unterschiede im CLA-Isomerenmuster konnten im Vergleich von Krebs- zu Fettgewebe ermittelt werden. Hier zeigte der Gehalt von c9,t11-C18:2 in den Krebsgeweben eine inverse Korrelation zum Fettgewebe. Um mögliche Korrelationen zu den aus den Fettsäuren gebildeten Eicosanoide zu finden, wurde neben der CLA-Analytik eine HPLC-ESI-MS-Methode zur Bestimmung von PGE₂, PGF_{2α}, PGD₂ und TXB₂ entwickelt.

Die Methode zur Bestimmung der vier genannten Eicosanoide wurde erfolgreich auf die genannten Gewebe angewendet. Mit jeweils ca. 150 µg/g Krebsgewebe wurden die beiden erstgenannten PG in deutlich höheren Gehalten ermittelt als mit 1-10 µg/g im Fettgewebe, wobei höhere c9,t11-C18:2-Gehalte im Fettgewebe aufgrund der kompetitiven Nutzung der Enzyme, die für die Bildung von Arachidonsäure und weiter zu PG aus Linolsäure erforderlich sind, für die niedrigeren PG-Gehalte verantwortlich sein können.

Um abschließend Information über die Bildung von CLA-Isomeren aus TFA zu erhalten, wurde der CLA-Gehalt und die CLA-Isomerenverteilung in Blutplasmaproben von Probanden bestimmt, denen zuvor eine TFA-reiche Margarine verabreicht wurde. Diese Untersuchung wurde auf die im Plasma vorkommenden Hauptlipidklassen CE, TG und PL beschränkt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigten Unterschiede im CLA-Gehalt und im CLA-Isomerenmuster zwischen den einzelnen Lipidklassen. Die Triacylglycerinfraktion enthält etwa doppelt soviel CLA wie auch TFA, verglichen mit den anderen beiden Lipidklassen. Durch einen hohen Anteil von TFA in der Ernährung wurde eine deutliche Steigerung des CLA-Gehaltes in allen Lipidklassen des Plasmas ermittelt. Durch die Anwendung der entwickelten Ag⁺-HPLC-Methode wurde diese Steigerung nicht nur auf das Hauptisomer c9,t11-, sondern auch auf das t7,c9-C18:2-Isomer zurückgeführt. Die Bildung der genannten CLA-Isomere wird mit der Δ^9 -Desaturierung der t11- bzw. t7-C18:1-Isomere begründet, die in dieser Studie einen Großteil der TFA-Fraktion in der Margarine bildeten.

5 Summary

Up to now only gaschromatographic methods for determining c9,t11-C18:2 have been used to quantify CLA in foodstuffs, tissues or plasma samples, while besides the main isomer further geometrical and positional isomers have been observed. The inclusion of single isomers is difficult because GC methods have not provided a satisfactory separation. Starting with a CLA-mixture and a fat sample from ruminants, which both contain more than 12 CLA-isomers, the development and optimization of the analysis of CLA was pursued. Fitting two to four silver-ion HPLC columns in series resulted in a separation of CLA-isomers, which were still not resolved. With a combination of semi-preparative Ag⁺-HPLC, GC-MS and GC-FTIR as well as partial hydrazine reduction for the mixed geometrical 11,13-isomers, the CLA-isomers t12,t14-, t7,t9-, c/t12,14-, t11,c13-, c11,t13- and t7,c9-C18:2 were separated and identified.

First with this method the content of CLA and the CLA-isomeric distribution in milk, milk products and meat with regard to technological parameters was determined. The results demonstrate that milk products produced at high temperatures show significantly higher amounts of the group of trans,trans-isomers, because of isomerization, compared to milk. Differences in the content of single isomers under the examined production conditions could not be determined. The amount of CLA at 0.56 % in meat of pasture-fed ruminants was significantly higher than the amount in meat of silage-fed ruminants (0.34 %). Furthermore significant differences in the isomeric distribution of CLA, whose main isomers c9,t11- and t7,c9-C18:2 make up the highest amounts in the silage-fed group, occurred.

Using the optimized CLA-analysis for two different types of human tissues a positive correlation was shown between the content of CLA in mammary adipose compared to mammary carcinoma tissue, while in ovarian tissue an inverse correlation was found. Because of the small number of samples, a covering or checking of the results is required. Differences in the isomeric distribution can be seen between carcinoma and adipose tissues. Both in the mammary and in the ovarian tissue an inverse correlation was obtained between the content of c9,t11-C18:2 in the carcinoma tissue and in the adipose tissue. To find possible correlations between the fatty acids and the eicosanoids PGE₂, PGF_{2α}, PGD₂ and TXB₂ formed in the physiological pathway, an HPLC-ESI-MS method was developed for the determination of the four eicosanoids in the above mentioned tissues. The content of the two first mentioned prostaglandins was approximately 150 µg/g carcinoma tissue, while the content in the adipose tissue at 1-10 µg/g is significantly lower. This is probably due to the effect of a higher amount of c9,t11-C18:2 in adipose tissue, which can influence the pathway of the formation of arachidonic acid.

Finally to get Information about the formation of CLA from TFA, the content of CLA and CLA-isomeric distribution in human plasma samples of patients who consumed a TFA-enriched margarine was determined. These investigations included the main lipid classes CE, TG and PL, respectively. The results of the examination of human plasma show first differences in the content of CLA and the isomeric distribution of CLA between the lipid classes. The tricycleride fraction shows a content twice as high compared to the cholesterol and phospholipid fraction. In the second part of the study a significant increase in the content of CLA due to the consumption of the TFA-enriched margarine was observed in all lipid classes. Using the Ag^+ -HPLC method just developed, the increase is not only due to the main isomer c9,t11-C18:2, but also to the t7,c9-C18:2. This effect occurred because of the Δ^9 -desaturation of the t11- and t7-C18:1-isomers, which formed a large part of the TFA fraction in the margarine used in the study.

6 Anhang

6.1 Referenzsubstanzen Fettsäuren

Das CLA-Isomerengemisch wurde von Sigma Chemical Co., Deisenhofen bezogen. Die Zusammensetzung des CLA-Isomerenstandards kann der Tabelle 6.1 entnommen werden.

Tab. 6.1 Zusammensetzung des CLA-Mischstandards, gelöst in n-Hexan

CLA-Isomere	Gehalt (%)	Gehalt (mg / 50 mL)
t12,t14	0,34	0,85
t11,t13	0,74	1,85
t10,t12	1,45	3,63
t9,t11	1,18	2,95
t8,t10	0,42	1,05
t7,t9	0,16	0,40
c/t12,14	0,12	0,30
c11,t13	23,11	57,78
t10,c12	29,42	73,55
c9,t11	28,67	71,68
t8,c10	12,34	30,85
c11,c13	0,90	2,25
c10,c12	0,51	1,28
c9,c11	0,58	1,45
c8,c10	0,07	0,18

Die einzelnen CLA-Isomere t9,t11, c9,t11, t10,c12 und c9,c11 sind als freie Fettsäuren bei Matreya Inc., Pleasant Gap, PA, USA, kommerziell erhältlich. Sie wurden mit BF₃/MeOH in ihre ME überführt (AOCS, Methode Ce 2-66, 1990).

Der FSME-Standard wurde von Sigma Chemical Co., Deisenhofen bezogen. Die Zusammensetzung dieses Standards sind entsprechend der Elutionsreihenfolge der FSME mittels GC/FID in Tabelle 6.2 wiedergegeben.

Tab. 6.2 Zusammensetzung des FSME-Standards, gelöst in n-Hexan

FSME	Name der Fettsäure		Konz. (mg/mL)
	Systematischer Name	Trivialname	
C4:0	Butansäure	Buttersäure	0,2
C6:0	Hexansäure	Capronsäure	0,2
C8:0	Octansäure	Caprylsäure	0,2
C10:0	Decansäure	Caprinsäure	0,2
C11:0	Undecansäure		0,1
C12:0	Dodecansäure	Laurinsäure	0,2
C13:0	Tridecansäure		0,1
C14:0	Tetradecansäure	Myristinsäure	0,2
C14:1 c9	9-cis-Tetradecensäure	Myristoleinsäure	0,1
C15:0	Pentadecansäure		0,1
C15:1 c10	10-cis-Pentadecensäure		0,1
C16:0	Hexadecansäure	Palmitinsäure	0,3
C16:1 c9	9-cis- Hexadecensäure	Palmitoleinsäure	0,1
C17:0	Heptadecansäure	Margarinsäure	0,1
C17:1 c10	10-cis- Heptadecensäure		0,1
C18:0	Octadecansäure	Stearinsäure	0,2
C18:1 t9	9-trans-Octadecensäure	Elaidinsäure	0,1
C18:1 c9	9-cis-Octadecensäure	Ölsäure	0,2
C18:2 t9,t12	all-trans-9,12-Octadecadiensäure	Linolelaidinsäure	0,1
C18:2 c9,c12	all-cis-9,12-Octadecadiensäure	Linolsäure	0,1
C18:3 n6	all-cis-6,9,12-Octadecatriensäure	γ -Linolensäure	0,1
C20:0	Eicosansäure	Arachinsäure	0,2
C20:1 c11	cis-11-Eicosensäure		0,1
C18:3 n3	all-cis-9,12,15-Octadecatriensäure	α -Linolensäure	0,1
C21:0	Heneicosansäure		0,1
C20:2 n6	all-cis-11,14-Eicosadiensäure		0,1
C20:3 n6	all-cis-8,11,14-Eicosatriensäure		0,1
C22:0	Docosansäure	Behensäure	0,2
C20:3 n3	all-cis-11,14,17-Eicosatriensäure		0,1
C20:4 n6	all-cis-5,8,11,14-Eicosatetraensäure	Arachidonsäure	0,1
C22:1 c13	cis-13-Docosensäure	Erucasäure	0,1
C23:0	Tricosansäure		0,1
C22:2 n6	all-cis-13,16-Docosadiensäure		0,1
C20:5 n3	all-cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure		0,1
C24:0	Tetracosansäure	Lignocerinsäure	0,2
C24:1 c15	cis-15-Tetracosensäure	Nervonsäure	0,1
C22:6 n3	all-cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure		0,1

Tab. 6.3 Zusammensetzung der internen FSME-Standards, gelöst in n-Hexan

FSME	Name der Fettsäure	Konzentration (mg/mL)
C17:0	Heptadecansäure	1,1
C17:1	10-cis- Heptadecensäure	5,0
C19:1	10-cis- Nonadecensäure	5,0

6.2 Referenzsubstanzen Eicosanoide

Die Eicosanoid-Einzelstandards wurden von Sigma Chemical Co., Deisenhofen als Festsubstanzen bezogen.

Diese wurden jeweils im Elutionsmittel (ACN/H₂O/TFAc, (31/69/0,02; v/v/v) gelöst. Die zur Entwicklung der HPLC-Methode hergestellten Einzelstandards finden sich in Tab. 6.4.

Tab. 6.4 Zusammensetzung der Eicosanoid-Einzelstandards im Elutionsmittel

Eicosanoid	Konzentration (µg/mL)
PGD ₂	200
PGE ₂	400
PGF _{2α}	200
TXB ₂	200

Als IS wurde ein vierfach deuterierter PGE₂-Standard von Cayman Chemical Company (über Alexis GmbH Deutschland) verwendet. Die Konzentration ist Tab. 6.5 zu entnehmen. Die eingesetzten Quantifizierungsstandards sind in Tab. 6.6 dargestellt.

Tab. 6.5 Konzentration des IS für Fett und Tumorgewebe, gelöst im Eluenten

Interner Standard	Konzentration (ng/mL)
PGE ₂ -d4	200

Tab. 6.6 Konzentrationen der Eicosanoide in den verwendeten externen Standardlösungen

Eicosanoid	Fett-Mischstandard (ng/mL)	Tumor-Mischstandard (ng/mL)
PGD ₂	10	100
PGE ₂	30	200
PGE ₂ -d4	30	200
PGF _{2α}	10	50
TXB ₂	10	50

6.3 Lebensmittelproben

Die untersuchten Milch und Milchprodukte sowie Käse- und Quarkproben stammen aus verschiedenen Hamburger Geschäften. Die Rohmilch wurde auf einem Hamburger Bauernhof erworben.

Tab. 6.7 Milch und Milcherzeugnisse

Lebensmittel	Laufende Nummer
Rohmilch, unbehandelt	980615/01
Vollmilch 3,5% Fett, hocherhitzt	971002/03, 971013/07, 971104/15
Fettarme Milch 1,5% Fett, hocherhitzt	971002/02, 971010/03, 971104/14
Entrahmte Milch 0,3% Fett, hocherhitzt	971002/04
Schlagsahne 30%, ultrahocherhitzt	971010/02, 971104/26
Schlagsahne 30% Fett, wärmebehandelt	971104/27
Kondensmilch 10% Fett, wärmebehandelt	971104/19, 971121/01
Kondensmilch 7,5% Fett, wärmebehandelt	971105/02, 971121/02
Kondensmilch 4% Fett, wärmebehandelt	971104/20, 971121/03
Kaffeesahne 12% Fett, wärmebehandelt	971102/22, 971106/01
Kaffeesahne 10% Fett, wärmebehandelt	971104/23

Tab. 6.8 Käse

Lebensmittel	Laufende Nummer
Frischkäse	970923/20
Deutscher Tilsiter	971202/40
Holländer Edamer	971202/41
Chester Schmelzkäsezubereitung	971202/43
Emmentaler Schmelzkäsezubereitung	971202/45
Feta	971202/46
Deutscher Camembert	971202/48, 971202/49
Emmentaler, gerieben	971202/50
Französischer Brie	971202/51
Frischkäse mit Kräutern	971202/52, 971202/55
Frischkäse	971202/54
Schmelzkäsezubereitung Sahne	971202/56
Schmelzkäsezubereitung Kräuter	971202/57
Mozzarella	971202/58
Käuter-Quark	971202/59

Die Fleischproben waren tiefgefroren und stammten aus dem Institut für Tierernährung der TU-München.

Tab. 6.9 Fleischproben

Fleisch	Laufende Nummer
Ochsen, silagegefüttert	144, 146, 148, 150
Ochsen, weidegefüttert	207, 208, 236, 242
Bullen, ohne α -Tocopherol	62030, 62031, 62032, 62035
Bullen, 180 Tage α -Tocopherol	62025, 62026
Bullen, 270 Tage α -Tocopherol	62027, 62028, 62029, 62034

6.4 Gewebeproben

Die Gewebeproben wurden von Herrn Prof. Dr. med. Lehmann, Chefarzt der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe des Allgemeinen Krankenhauses Altona, Hamburg, zur Verfügung gestellt. Sie wurden bis zur Aufarbeitung bei -80°C tiefgekühlt gelagert. Die Proben bezeichnet mit „a“ entsprechen Tumorgewebe. Mit „b“ gekennzeichnete Proben entstammen Fettgewebe, das direkt am Tumor liegt, während „c“ Fettgewebe aus Tumor entfernteren Bereichen stammt. Letzteres stellt das eigentliche Kontrollfettgewebe dar.

Tab. 6.10 Daten zu den Gewebeproben

	Alter	Lokalisation	Hormongabe	Hormonrezeptorstatus	Stadium	Histologie
I	69	Rechte Mamma	nein	Östr. pos., Prog. pos.	T4 Nx G3	Ductal
II	64	Rechte Mamma	nein	Östr. pos., Prog. pos.	T2 N0 G2	Ductal
IV	78	Rechte Mamma	nein	Östr. pos., Prog. pos.	T1 N1 G3	Lobulär
V	75	Ovar			III	Serös, Cystadeno
VI	83	Linke Mamma	nein	Östr. neg., Prog. neg.	T2 N0 G2	Ductal
VII	Mammakarzinom, keine weiteren Angaben					
VIII	78	Linke Mamma	nein	Östr. pos., Prog. pos.	T1 No G2	Lobulär
IX	83	Ovar			Ic	Fragillar, Adeno
X	54	Linke Mamma	nein	Östr. neg., Prog. neg.	T2 N0 G3	Lobulär
XII	73	Ovar			III	Muzinos
XIII	83	Ovar			Ic	Fragillar, Adeno
XVI	76	Rechte Mamma	nein	Östr. neg., Prog. pos.	T2 N0 G2	Ductal
XVII	75	Ovar			III	Serös, Cystadeno
IXX	75	Ovar			II	Serös, Cystadeno
XX	47	Linke Mamma	nein	Östr. pos., Prog. pos.	T2 N2 G3	Ductal
XXI	83	Linke Mamma	nein	Östr. pos., Prog. pos.	T1 N? G2	Lobulär
XXIII	67	Linke Mamma	nein	Östr. pos., Prog. pos.	Rez N0 G2	Ductal + Lobulär

? = nicht bestimmt

6.5 Plasmaproben

Tab. 6.11 Physiologische Daten zu den Probanden und den Plasmaproben

	Persönliche Angaben				Cholesteringehalt (mg/dL)			
	Geschlecht	Alter	Gewicht	Größe	Tag 1	Tag 2	Tag 17	Tag 19
Proband 4	männlich	34	67 kg	1,70 m	174	149	144	147
Proband 5	männlich	34	103 kg	1,97 m	283	230	252	189
Proband 6	männlich	28	72 kg	1,90 m	216	233	161	177
Proband 7	männlich	27	84 kg	1,83 m	201	159	116	144
Proband 8	männlich	34	83 kg	1,86 m	211	217	283	195

Tab. 6.12 Zusammensetzung der TFA-reichen Margarine der TFA-Studie

FSME	Gesamt-FSME		CLA-Isomer	CLA-Isomeren	
	g/100 g Fettsäuren	Gehalt (mg/g Margarine)		g/100 g CLA	Gehalt (mg/g Margarine)
C12	0,30	3,0	t12,t14	2,96	0,05
C14	0,19	1,9	t11,t13	4,99	0,08
C16	11,50	110,6	t10,t12	14,87	0,24
C18	9,12	86,2	t9,t11	14,43	0,23
C18:1 t6-t8	6,74	64,3	t8,t10	5,70	0,09
C18:1 t9	10,44	99,6	t7,t9	4,35	0,07
C18:1 t10	9,20	87,8	c/t 12,14	1,87	0,03
C18:1 t11	7,57	72,1	c/t 11,13	7,79	0,12
C18:1 t12	6,23	59,5	t10,c12	12,08	0,19
C18:1 c9	28,66	275,4	c/t 9,11	18,57	0,30
C18:1 c11	2,73	26,2	t8,c10	8,77	0,14
C18:2 t9,t12	0,64	6,4	c11,c13	0,47	0,01
C18:2 c9,t12	1,06	10,3	c10,c12	1,33	0,02
C18:2 t9,c12	0,80	7,7	c9,c11	1,48	0,02
C18:2 c9,c12	3,08	29,9	c8,c10	0,38	0,01
C18:3 n3	0,52	5,9			
C20	1,22	11,3			
SFA	22,33	213,0			
MUFA	31,39	301,6			
PUFA	3,60	35,8			
TFA	42,05	401,3			
CLA	0,14	1,6			

Tab. 6.13 Daten zur Nährstoffangaben der Probanden der TFA-Studie mit Beginn der Studie, mit Beginn der halben TFA-Aufnahme (60 g TFA/Tag) und mit Beginn der hohen TFA-Aufnahme (120 g TFA/Tag)

	Abs. Gehalt (g/Tag)					Energieanteil (kcal)					Energieanteil (%)				
	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8
Chol *)	643	457,9	314	308,2	270,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C 14:0	11,1	7,1	3,1	6,6	4,9	111	71	31	66	49	3,1	2,5	1,6	2,6	1,2
C 16:0	34,9	27,6	20,2	21,7	17,6	349	276	202	217	176	9,7	9,6	10,3	8,5	4,4
C 18:0	13,8	13,6	10,2	7,7	9,1	138	136	102	77	91	3,8	4,7	5,2	3,0	2,3
C 18:1	42,9	35,6	36,2	36	23,4	429	356	362	360	234	11,9	12,4	18,5	14,2	5,8
C 18.2	15,2	13	13,7	10,5	13,8	152	130	137	105	138	4,2	4,5	7,0	4,1	3,4
SFA	76,7	58,2	38	47,6	40,2	767	582	380	476	402	21,2	20,2	19,4	18,7	10,0
MUFA	51,6	41,1	40,2	41,5	26,6	516	411	402	415	266	14,3	14,3	20,6	16,3	6,6
PUFA	19,3	15,8	15,6	12,6	15,3	193	158	156	126	153	5,3	5,5	8,0	5,0	3,8
TFA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cal (kcal)	3614	2879,4	1955	2539	4024	3614	2879,4	1955	2539	4024	100	100	100	100	100
Prot	125,8	129,2	85,8	97,2	157	503,2	516,8	343,2	388,8	628,0	13,9	17,9	17,6	15,3	15,6
Carb	348,6	305,3	173	286,8	420,5	1394,4	1221,2	692,0	1147,2	1682,0	38,6	42,4	35,4	45,2	41,8
DF	27,6	24,4	13,2	16,3	20,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Chol 60 *)	129,9	322,4	232,1	n.b. **)	462	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	0
C 14:0 60	1,8	4,6	1,6	n.b.	5,7	18	46	16	0	57	0,7	1,7	0,8	n.b.	1,0
C 16:0 60	17,9	21,5	16	n.b.	22,2	179	215	160	0	222	7,2	8,0	7,8	n.b.	3,9
C 18:0 60	13,3	11,6	10,6	n.b.	11,3	133	116	106	0	113	5,3	4,3	5,2	n.b.	2,0
C 18:1 60	32,4	37,3	28,4	n.b.	39,2	324	373	284	0	392	12,9	13,8	13,8	n.b.	6,9
C 18.2 60	7,1	9,1	11,1	n.b.	12,6	71	91	111	0	126	2,8	3,4	5,4	n.b.	2,2
SFA 60	36,4	46,3	31,5	n.b.	60,8	364	463	315	0	608	14,5	17,1	15,3	n.b.	10,7
MUFA 60	35,8	41,7	31,1	n.b.	51,1	358	417	311	0	511	14,3	15,4	15,1	n.b.	9,0
PUFA 60	8,3	10,6	13,1	n.b.	16,8	83	106	131	0	168	3,3	3,9	6,4	n.b.	3,0
TFA 60	24,05	24,05	24,05	24,05	24,05	240,5	240,5	240,5	240,5	240,5	9,6	8,9	11,7	n.b.	4,2
Cal 60 (kcal)	2502	2703	2057	n.b.	5659	2502	2703	2057	0	5659	100	100	100	n.b.	100
Prot 60	75,9	74,6	47,8	n.b.	201,4	303,6	298,4	191,2	0	805,6	12,1	11,0	9,3	n.b.	14,2
Carb 60	286,7	279,5	219,2	n.b.	648,8	1146,8	1118,0	876,8	0	2595,2	45,8	41,4	42,8	n.b.	45,9
DF 60	22,5	11,4	15,8	n.b.	27,7	0	0	0	0	0	0	0	0	n.b.	0
Chol 120 *)	321,5	485,8	14,0	137,7	211,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C 14:0 120	6,6	3,7	0,7	4,4	3,0	66	37	7	44	30	1,5	1,1	0,3	1,2	0,5
C 16:0 120	40,1	30,0	17,0	26,2	27,2	401	300	170	262	272	8,9	8,7	6,4	7,3	4,5
C 18:0 120	22,2	17,7	14,0	15,0	16,4	222	177	140	150	164	4,9	5,1	5,3	4,2	2,7
C 18:1 120	72,7	57,3	37,4	49,3	55,0	727	573	374	493	550	16,1	16,5	14,1	13,8	9,2
C 18.2 120	13,5	12,6	5,1	10,9	14,2	135	126	51	109	142	3,0	3,6	1,9	3,1	2,4
SFA 120	79,2	58,2	38,6	53,9	51,9	792	582	386	539	519	17,5	16,8	14,6	15,1	8,6
MUFA 120	82,0	63,8	47,8	55,2	62,7	820	638	478	552	627	18,1	18,4	18,1	15,5	10,4
PUFA 120	16,2	14,9	7,4	12,8	16,5	162	149	74	128	165	3,6	4,3	2,8	3,6	2,7
TFA 120	48,1	48,1	48,1	48,1	48,1	481	481	481	481	481	10,6	13,9	18,2	13,5	8,0
Cal 120(kcal)	4528	3465	2648	3566	6006	4528	3465	2648	3566	6006	100	100	100	100	100
Prot 120	108,7	97,5	45,7	65,0	182,1	434,8	390,0	182,8	260,0	728,4	9,6	11,3	6,9	7,3	12,1
Carb 120	400,4	309,0	273,6	412,6	663,0	1601,6	1236,0	1094,4	1650,4	2652,0	35,4	35,7	41,3	46,3	44,2
DF 120	21,2	17,7	18,4	21,1	25,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*) Angabe in mg

**) n.b. = nicht bestimmt

6.6 Lipidextraktion

Milcherzeugnisse

- Lyophilisieren: flüssige Proben ca. 150 mL, halb feste Proben ca. 100 g in 250-mL-Rundkolben.
- Lyophilisat einwiegen, dass der Fettgehalt der Einwaage ca. 300 mg beträgt.
- Lyophilisat mit 10 mL n-Hexan im Ultraschallbad extrahieren.
- Bei 5000 rpm 10 min zentrifugieren.
- Extrakt in ein Schraubdeckelreagenzglas filtrieren und im Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen.
- 30-40 mg Fett einwiegen, in 1 mL n-Hexan (mit IS) aufnehmen und zur Umesterung einsetzen (s. 6.10.1).

Käse

- Tiefgekühlte Käseprobe mittels Moulinette zerkleinern und homogenisieren.
- 5 g des Homogenisats in ein 50-mL-Zentrifugenglas einwiegen.
- 10 g wasserfreies Natriumsulfat und 10 mL n-Hexan hinzufügen.
- 90 sek. mit dem Ultra-Turrax unter Eiskühlung zerkleinern.
- Bei 5000 rpm 10 min. zentrifugieren.
- Extrakt in ein Schraubdeckelreagenzglas filtrieren und im Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen.
- 30-40 mg Fett einwiegen, in 1 mL n-Hexan (mit IS) aufnehmen und zur Umesterung einsetzen (s. 6.10.1).

Fleisch

- Tiefgekühlte Fleischprobe mittels Moulinette zerkleinern und homogenisieren.
- 5 g des Homogenisats in ein 50-mL-Zentrifugenglas einwiegen und 15 mL DCM/MeOH (2:1/v:v) hinzufügen.
- 90 sek. mit dem Ultra-Turrax unter Eiskühlung zerkleinern.
- Bei 5000 rpm 10 min zentrifugieren.
- Überstand in einen 250-mL-Rundkolben abdekantieren
- Extraktion des Rückstands zweimal mit 10 mL DCM/MeOH (2/1; v/v) und einmal mit n-Hexan im Ultraschallbad (5 min) wiederholen.
- Vereinigte Extrakte am Vakuumrotationsverdampfer einengen (Druck dabei stufenweise von 600 auf 40 mbar senken, Wasserbadtemperatur 40 °C).
- Rückstand in 12,5 mL wassergesättigtem DCM aufnehmen und eine Minute im Ultraschallbad lösen.
- davon 1 mL in ein Schraubdeckelreagenzglas pipettieren und unter Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen.
- Rückstand in 1 mL n-Hexan (mit IS) aufnehmen und zur Umesterung einsetzen (s. 6.10.1).

Plasma nach FOLCH et al. (1957), modifiziert

- 1 mL Humanplasma mit 3 mL DCM/MeOH (2/1; v/v) gut schütteln.
- Bei 5000 rpm 10 min zentrifugieren.
- Untere und obere Phase über Natriumsulfat filtrieren.
- Vorgang zweimal wiederholen, diesmal jedoch nur DCM-Phase (untere) abziehen und ebenfalls filtrieren.
- Vereinigte Extrakte im Stickstoffstrom bis zu Trockene einengen.
- Fett in 1 mL n-Hexan aufnehmen und zur Lipidfraktionierung (s. 6.9) einsetzen.

Fett- und Tumorgewebe (Mamma und Ovar)

- Gefrorene Gewebeprobe zusätzlich mit flüssigem Stickstoff tiefkühlen.
- Probe in kleine Stücke schneiden.
- Mit 3 mL DCM/MeOH (2/1; v/v) und Seesand im Mörser zerkleinern und extrahieren.
- Über wasserfreies Natriumsulfat in ein Schraubdeckelreagenzglas filtrieren.
- Vorgang einmal mit o.g. Lösungsmittel und einmal mit n-Hexan wiederholen.
- Vereinigte Extrakte im Stickstoffstrom bis zu Trockene einengen.
- Fett in 1 mL n-Hexan aufnehmen und zur Umesterung (s. 6.10.1) einsetzen.

6.7 Eicosanoid-Extraktion aus Fett- und Tumorgewebe (Mamma und Ovar)

- Gewebeproben in Krebs-Ringer-Lösung waschen, anschließend auf Küchenpapier die Lösung abtupfen.
- Ca. 0,1 g in Kryoröhrchen genau einwiegen, Probe in ca. 2 mm² große Stücke schneiden und in flüssigem Stickstoff gefrieren.
- Mit 3,5 mL Krebs-Ringer-Lösung und Seesand fein zermörsern.
- 30 µl (zu Fett-/Muskelgewebe) bzw. 300 µl (zu Tumorgewebe) der IS-Lösung (s. 6.2) zusetzen.
- Mit 2 x 3 mL Petrolether entfetten (mit Pasteurpipette Etherphase abziehen).
- Mit ca. 2 mL einer 2%igen Ameisensäure-Lösung einen pH-Wert von 3-3,5 einstellen (Überprüfung mit pH-Papier).
- Mit 3 mL Chloroform/Ameisensäure (98/2; v/v) die Eicosanoide durch Mörsern extrahieren. Die Flüssigkeit in ein Schraubdeckelreagenzglas überführen.
- Zur Phasentrennung zentrifugieren (10 min. bei 5000 rpm).
- Die obere, wässrige Phase mit Pasteurpipette der Extraktion erneut zuführen.
- Extraktion einmal wiederholen.
- Chloroformextrakte über Faltenfilter mit wasserfreiem Natriumsulfat filtrieren.
- Chloroform bei 40 °C bis zur Trockene mit Stickstoff abgasen (ggf. nochmal 3 mL Chloroform zum vollständigen Entfernen der Ameisensäure zugeben).
- Rückstand in 3 mL bidest. Wasser (pH 3-4; mit Salzsäure) aufnehmen.

6.8 Aufreinigung des Eicosanoidextraktes

- Den Eicosanoidextrakt (s. 6.7) auf eine in MeOH gequollene, mit Wasser (pH 3-4, s.o.) gewaschene Amberlite XAD 2 (Merck) Säule geben.
- Mit Wasser (pH 3-4) waschen.
- Die Eicosanoide mit 12 mL MeOH eluieren (Säule mit je 10 mL MeOH und Wasser für nächste Probe regenerieren).
- MeOH bei 40 °C im Stickstoffstrom abblasen.
- Rückstand in 200 µl Acetonitril/Wasser/TFAc, 31/69/0,02 (v/v/v) aufnehmen.
- Injektion von 50 µl in HPLC-ESI-MS.

6.9 Lipidfraktionierung aus Blutplasma

- NH₂-SPE-Säule (Macherey und Nagel) mit 5 mL n-Hexan konditionieren.
- 1 mL in n-Hexan gelösten Plasmaextrakt (s. 6.6) auf die Säule geben.
- Elution der CE mit 3 mL n-Hexan/Chloroform (9/2: v/v).
- Elution der TG mit 4 mL n-Hexan/Diethylether (1/1: v/v).
- Elution der PL mit 8 mL MeOH.
- Lipidfraktionen im Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen.
- Rückstände in 1 mL n-Hexan (mit IS; s. 6.1) aufnehmen und zur Umesterung (s. 6.10.1) einsetzen.

6.10 Derivatisierungen

6.10.1 FSME

Basische Umesterung

- Die in 1 mL n-Hexan gelösten Lipide der Fleischproben, der Käseproben und der Gewebeproben (6.6) sowie die einzelnen Lipidfraktionen des Plasmas (6.9) jeweils in ein Schraubdeckelreagenzglas geben.
- 500 µl 5 %ige methanolische Kaliummethylatlösung zufügen und schütteln.
- 15 min. bei 60 °C im Trockenschrank umestern (CE 30 min. bei 80 °C derivatisieren).
- 10 min. bei Raumtemperatur abkühlen lassen.
- Mit 1 mL 2 %iger Schwefelsäure neutralisieren und gut schütteln.
- Bei 5000 rpm 10 min zur Phasentrennung zentrifugieren.
- Hexanphase in ein Probenvial pipettieren und im Stickstoffstrom zur Trockene einengen.
- Die FSME in 1 mL n-Hexan aufnehmen (FSME der CE in 500 µl n-Hexan aufnehmen).
- 1:10 verdünnen (mit Ausnahme der PL).
- Injektion von 20 µl in die HPLC und von 1 µl in den GC.

Veresterung mittels methanolischer BF₃-Lösung (AOCS, 1990)

- 1 mL der in n-Hexan gelösten freien Fettsäure des c9,t11-CLA-Isomers (6.1) in ein Schraubdeckelreagenzglas pipettieren.
- Im Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen.
- 2,5 mL 12,5 %ige methanolische BF₃-Lösung hinzufügen, 5 min. bei 70 °C im Trockenschrank erhitzen und bei Raumtemperatur abkühlen lassen.
- Mit 3 mL gesättigter Natriumchloridlösung und 2 mL n-Hexan versetzen.
- Schütteln und 10 min. bei 5000 rpm bis zur Phasentrennung zentrifugieren.
- Hexanphase in ein Schraubdeckelreagenzglas pipettieren und im Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen.
- Rückstand in 1 mL n-Hexan aufnehmen.
- Injektion von 1 µl in den GC.

Veresterung mit Trimethylsilyldiazomethan (TMS-diazomethan)

- 1 mL der in n-Hexan gelösten freien Fettsäuren in ein Schraubdeckelreagenzglas pipettieren.
- Im Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen.
- Rückstand in 2 mL n-Hexan/MeOH (2/8; v/v) aufnehmen.
- 500 µl TMS-Diazomethan zufügen (gelbe Färbung zeigt Reagenz an).
- Verschlossene Probe 40 min. im Abzug stehen lassen.
- 3 Tropfen Eisessig vorsichtig zugeben (Stickstoff-Bildung).
- 2 mL n-Hexan + 5 mL dest. Wasser zufügen und nach Schütteln zentrifugieren.
- Obere Phase abnehmen, im Stickstoffstrom abblasen und FSME in 500 µl n-Hexan aufnehmen.
- Injektion von 1 µl in den GC.

6.10.2 DMOX-DERIVATE

- Das Hexan der gelösten CLA-ME (s. 6.10.1) im Stickstoffstrom abblasen.
- In 500 µl AMP aufnehmen, Probenvial gut verschließen und abdichten.
- 18 h im Edelstahlblock auf dem Magnetrührer bei 180 °C erhitzen.
- 1 h bei Raumtemperatur abkühlen lassen.
- Mit 5 mL DCM in ein Schraubreagenzglas überführen, zweimal mit 2 mL dest. Wasser ausschütteln.
- Bei 5000 rpm 10 min. zentrifugieren, wässrige Phase abpipettieren.
- DCMphase über wasserfreies Natriumsulfat in ein Schraubreagenzglas filtrieren.
- DMOX-Derivate im Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen und in 100 µl n-Hexan aufnehmen.
- Injektion von 1 µl in den GC.

6.11 Partielle Hydrazinreduktion der CLA-Isomere

- Die CLA-ME zunächst mehrmals aus einer Rindfleischprobe (s. 6.3) mittels semipräparativer Ag⁺-HPLC (s. 6.13) fraktionieren.
- Die vereinigten CLA-ME im Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen.
- Mit 100 mL 10 %iger ethanolischer Hydrazinhydratlösung in einen 250-mL-Dreihalskolben überführen.
- 50 µl Heptadecansäure-ME als IS (s. 6.1) hinzufügen.
- Reaktionsgemisch 60 min. unter Rückfluss, bei konstanter Sauerstoffzufuhr und starkem Rühren (Magnetrührer) bis 45 °C im Wasserbad erhitzen (Temperatur kontrollieren).
- Durch Zugabe von 15 mL n-Hexan die Reaktion beenden.
- Schütteln und bis zur Phasentrennung (ca. 15 min.) im Kühlschrank stehen lassen.
- Hexanphase in einem 250-mL-Scheidetrichter abtrennen.
- Ethanolische Reaktionslösung dreimal mit jeweils 15 mL n-Hexan ausschüteln.
- Die vereinigten Hexanphasen im Stickstoffstrom bis zur Trockene einengen.
- CLA-ME in 100 µl n-Hexan aufnehmen und 1 µl in den GC injizieren.

6.12 GC-Parameter

GC-FID

Gerät: Hewlett Packard 6890 Gas Chromatograph mit Autosampler HP-6890 Series II, Waldbronn, Germany

Auswertesoftware: HP-Chem Station Version A.04.02

Säule: CP-SIL 88, 100 m x 0.25 mm ID, 0.2 µm Filmdicke,
Fa. Chrompack, Middelburg, Niederlande

Trärgas: Wasserstoff, 1,5 mL/min.; 1,9 bar

Split: 1:10 bzw. 1:20

Make-up-Gas: Stickstoff 50 mL/min.

Brennergase: Luft 300 mL/min.
Wasserstoff 40 mL/min.

Injektortemperatur: 200 °C

Detektortemperatur: 260 °C

Injektionsvolumen: 1 µl

Temp.-Programm:

Allgemein			C18:1-Isomere		
Start: 75 °C, 2 min. isotherm			Start: 150 °C		
Heizrate	Temperatur	Isotherm	Heizrate	Temperatur	Isotherm
2 °C/min.	175 °C	20 min.	2 °C/min.	155 °C	50 min.
5 °C/min.	200 °C	15 min.	40 °C/min.	170 °C	7,1 min.
2 °C/min.	235 °C	5 min.	40 °C/min.	224 °C	9 min.

GC-MS

Gerät: Hewlett Packard 5890 Series II Gas Chromatograph, Waldbronn, Germany

Auswertesoftware: MS Chem. Station G1034C 2.00

Säule: HP-5 MS, 30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke

Detektor: HP 5971 Series Mass Selective Detector

Trägergas: Helium 1,0 mL/min.

Split: 1 Minute splitless, anschließend 1:10

Injektortemperatur: 250 °C

Injektionsvolumen: 1 µl

Detektortemperatur: 300 °C

Ionisationsenergie: Elektronenstoßionisation 70 eV

Temp.-Programm:

Start: 150 °C, 2 min. isotherm		
Heizrate	Temperatur	Isotherm
2 °C/min.	260 °C	10 min.

GC-FTIR

Gerät: Hewlett Packard 5890 Series II Gas Chromatograph, Waldbronn, Germany

Auswertesoftware: HP 9000

Säule: DB-5 MS, 30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke

Detektor: FTIR HP 5965 A

Trägergas: Helium 1,0 mL/min.

Split: splitless

Injektortemperatur: 250 °C

Injektionsvolumen: 3 µl

Temp.-Programm:

Start: 120 °C, 3 min. isotherm		
Heizrate	Temperatur	Isotherm
3 °C/min.	280 °C	-

6.13 HPLC-Parameter**Analytische Ag⁺-HPLC-DAD**

Gerät: Merck-Hitachi 655 A-12LC, L-5000 Controller

Detektor: Waters 996 PDA, $\lambda = 200-350$ nm, 234 nm extrahiert

Auswertung: PC mit Millennium³² Version 3.05.01, 1998 Waters Corp.

Analytische Säule: 3 x ChromSpher 5 Lipids, 4.6 mm ID*250 stainless steel, 5 µm Partikelgröße, Fa. Chrompack, Middelburg, Niederlande

Mobile Phase: 0,1 % Acetonitril in n-Hexan

Flussrate: 1 mL/min.

Injektionsvolumen: 20 µl

Ag⁺-HPLC-UV (cis- und trans C18:1 Trennung) nach ADLOF et al.1995

Gerät: Merck-Hitachi 655 A-12LC, L-5000 Contoller
Detektor: Merck-Hitachi, L 4200 UV/VIS, $\lambda = 206 \text{ nm}$
Auswertung: PC mit Auswertesoftware, Chromstar Version 3.20
Analytische Säule: ChromSpher 5 Lipids, 4.6 mm ID*250 stainless steel, 5 μm Partikelgröße, Fa. Chrompack, Middelburg, Niederlande
Mobile Phase: 0,15 % Acetonitril in n-Hexan
Flussrate: 1 mL/min.
Injektionsvolumen: 20 μl

Semipräparative Ag⁺-HPLC-UV

Gerät: Merck-Hitachi 655 A-12LC, L-5000 Contoller
Detektor: Merck-Hitachi, L 4200 UV/VIS, $\lambda = 234 \text{ nm}$
Auswertung: PC mit Auswertesoftware, Chromstar Version 3.20
Analytische Säule: ChromSpher 5 Lipids, 10 mm ID*250 stainless steel, 5 μm Partikelgröße, Fa. Chrompack, Middelburg, Niederlande
Mobile Phase: 0,1 % Acetonitril in n-Hexan
Flussrate: 4 mL/min.
Injektionsvolumen: 450 μl

HPLC-ESI-MS

Gerät: HP Serie 1100
Pumpe: Bin Pump G1312A
Entgaser: G1322A
Autosampler: ALS G1313A
Säulenofen: G1316A
UV-Detektor: G1314A
MS-Detektor: HP Serie 1100 MSI: G1946A mit positiver Ionenquelle
Auswertung: PC mit HP-Chem Station Version 06.01, 1998
Analytische Säule: RP-18 LiChrospher (Merck), Teilchendurchmesser: 5 μm , Länge: 20cm, mit selbstgepackte Lichroprep-Vorsäule
Mobile Phase: Acetonitril/Wasser/TFAc, (31/69/0,02; v/v/v)
Flussrate: 1,1 mL/min.
Fragmentorspannung: 60 mV
Injektionsvolumen: 50 μl
Meßtemperatur: 20 °C

6.14 Kalibrierung

6.14.1 CLA-ISOMERE

Tab. 6.14 Messwerte der CLA-Isomere mittels Ag+-HPLC-DAD (s. 6.13) zur Kalibrierung

t11,t13		t10,t12		t9,t11		t8,t10		c11,t13		t10,c12	
Konz. *)	Area	Konz.	Area	Konz.	Area	Konz.	Area	Konz.	Area	Konz.	Area
0,0153	1121203	0,0391	2868990	0,0360	2697244	0,0112	827638	0,4038	30815128	0,8211	63561858
0,0122	1355257	0,0313	3437028	0,0288	3133543	0,0090	979690	0,3230	35149778	0,6569	71058805
0,0061	664614	0,0156	1650928	0,0144	1512184	0,0045	470157	0,1615	17108202	0,3284	34744962
0,0031	266677	0,0078	710508	0,0072	664563	0,0022	207812	0,0808	7384185	0,1642	15125703
0,0012	116487	0,0031	304860	0,0029	277626	0,0009	82467	0,0323	3288291	0,0657	6736353
c9,t11		t8,c10		c11,c13		C10,c12		c9,c11			
Konz.	Area	Konz.	Area	Konz.	Area	Konz.	Area	Konz.	Area		
0,8464	63564730	0,2958	21681390	0,0082	638645	0,0083	663032	0,0120	947664		
0,6771	72722461	0,2366	25054926	0,0066	725512	0,0066	846545	0,0096	1000042		
0,3386	35817120	0,1183	12538088	0,0033	348540	0,0033	328427	0,0048	548413		
0,1693	15701579	0,0592	5555881	0,0016	149785	0,0017	134495	0,0024	208859		
0,0677	7028769	0,0237	2483928	0,0007	72774	0,0007	73724	0,0010	104827		

*) Konz. in g/L

Tab. 6.15 Kalibrierdaten der im CLA-Standard enthaltenen Isomere

CLA	Steigung	Achsenabschnitt	Bestimmtheitsmaß	relative Verfahrens- standardabweichung
t11,t13	113457774	- 36610	0.9924	17.22
t10,t12	111884495	- 84555	0.9947	15.42
t9,t11	110739728	- 72808	0.9971	13.94
t8,t10	111376808	- 26554	0.9960	16.24
c11,t13	110435478	- 694663	0.9968	12.33
t10,c12	109705566	- 1294292	0.9968	11.57
c9,t11	108810808	- 1168875	0.9971	10.43
t8,c10	107195362	- 316531	0.9974	8.64
c11,c13	111946618	- 17438	0.9762	16.88
c10,c12	133198536	- 62370	0.9498	38.30
c9,c11	106549607	- 5712	0.9865	9.82

6.14.2 EICOSANOIDE

Tab. 6.16 Hauptfragmente der Eicosanoide und prozentuale Anteil von der höchsten Masse (mittels HPLC-ESI-MS)

	Rt[min]	M* *)	M* + Na	M*+NH ₄ ⁺	M*+H ⁺ - H ₂ O	M*+H ⁺ - 2H ₂ O	M*+H ⁺ - 3H ₂ O
PGE ₂	21,7	352	375 (100%)		335 (65%)	317 (60%)	299 (20%)
PGD ₂	26,4	352	375 (76%)	370 (85%)	335 (100%)	317 (67%)	
PGF ₂ α	17,0	354	377 (100%)		337 (45%)	319 (56%)	301 (38%)
TXB ₂	14,0	370	393 (50%)		353 (23%)	335 (100%)	317 (27%)
PGE ₂ -D ₄	21,7	356	379 (100%)		339 (92%)	321 (97%)	303 (38%)

) M = Masse des nicht fragmentierten Moleküls [g/mol]; Rt = Retentionszeit

Tab. 6.17 Messwerte der Eicosanoide zur Kalibrierung

PGE ₂		PGE ₂ -d4		PGF _{2α}		PGD ₂		TXB ₂	
Konz. *)	Area	Konz.	Area	Konz.	Area	Konz.	Area	Konz.	Area
6,25	14746					6,25	n.n.		
12,5	36680	25	n.n. **)	12,5	12165	12,5	n.n.	100	n.n.
25	69771	50	12756	25	21836	25	72568	250	97478
50	154330	100	16704	50	38682	50	129288	500	187073
100	249358	200	30782	100	69663	100	243335	1000	357896
1000	2902540	2000	223830						

*) Konz. in ng/mL; Area in Skalenteilen. **) n.n. = nicht nachweisbar

Tab. 6.18 Linearitätsbestimmungen der Eicosanoide

Eicosanoid	Steigung	Achsenabschnitt	Bestimmtheitsmaß
PGE ₂	3604,5	- 25512	0.9973
PGE ₂ -d4	128,12	5498,3	0.9993
PGF _{2α}	683,46	3785,1	0.9992
PGD ₂	2104,6	35333	0.9961
TXB ₂	366,38	5133,9	0.9936

Tab. 6.19 Nachweisgrenzen der Eicosanoide

	Konzentration	Absolut (in 20 µl):
PGE ₂	6,25 ng/mL	0,13 ng
PGD ₂	12,5 ng/mL *)	0,25 ng
PGF _{2α}	12,5 ng/mL	0,25 ng
TXB ₂	180 ng/mL	3,6 ng
PGE ₂ -d4	50 ng/mL	1,0 ng

*) Für 12,5 ng/mL war bereits ein deutlicher Peak zu erkennen, der jedoch in der Höhe noch nicht das doppelte Grundrauschen erreichte.

6.15 GC-Ergebnisse

Milch und Milcherzeugnisse

Tab 6.20 FSME-Gehalte der Milch-, Milcherzeugnis- sowie Käseproben (in g/100 g FSME)

FSME	Milch (n=6)		Milcherzeugnisse (n=3)		Käse (n=16)	
	MW *)	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw
C 10	2,89	0,11	2,77	0,14	3,04	0,18
C 12	3,69	0,18	3,52	0,16	3,83	0,35
C 13	0,08	0,04	0,10	0,01	0,10	0,02
C 14	12,07	0,43	11,90	0,37	12,32	0,54
C 14:1 c9	1,67	0,10	1,68	0,10	1,67	0,09
C 15	1,28	0,06	1,27	0,02	1,30	0,07
C 16	33,01	1,47	32,87	0,29	32,29	1,73
C 16:1 t9	0,22	0,06	0,26	0,01	0,25	0,03
C 16:1 c9	2,11	0,08	2,17	0,04	2,07	0,11
C 17	0,68	0,02	0,74	0,06	0,74	0,11
C 18	11,19	0,72	11,60	0,67	10,78	1,49
C 18:1 t9	0,21	0,21	0,04	0,07	0,06	0,06
C 18:1 t11	0,37	0,23	0,21	0,18	0,20	0,16
C 18:1 c9	25,30	1,63	25,62	0,61	25,80	1,80
C 18:1 c11	0,73	0,08	0,74	0,06	0,65	0,16
C 18:2 c9,c12	1,76	0,26	1,92	0,23	2,00	0,26
C 18:3 c6	0,02	0,02	0,03	0,01	0,02	0,03
C 20	0,19	0,02	0,18	0,01	0,18	0,03
C 18:3 c9	0,67	0,11	0,64	0,02	0,78	0,23
C 20:1 c11	0,08	0,07	0,13	0,07	0,16	0,02
C 18:4 n3	0,03	0,02	0,01	0,02	0,02	0,03
C 21	0,06	0,05	0,08	0,04	0,05	0,04
C 20:2 n6	0,02	0,02	0,05	0,03	0,04	0,04
C 20:3 n6	0,04	0,04	0,08	0,01	0,07	0,01
C 22	0,05	0,04	0,09	0,01	0,06	0,04
C 20:4 n6	0,08	0,06	0,12	0,01	0,11	0,02
C 22:2 + 20:5	0,06	0,05	0,09	0,01	0,10	0,02
C 24	0,04	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03
SFA	65,24	1,40	65,15	0,73	64,73	2,55
MUFA	29,89	1,67	30,33	0,60	30,34	1,89
PUFA	2,68	0,44	2,95	0,23	3,13	0,38
TFA	0,80	0,41	0,51	0,24	0,50	0,22
CLA	1,05	0,20	1,03	0,09	1,28	0,45

*) MW = Mittelwert

Fleisch

Tabelle 6.21 FSME-Gehalte der Fleischproben (in g/100 g FSME)

FSME	SGO (n=4)		WGO (n=4)		B KG (n=4)		B 180 (n=2)		B 270 (n=4)	
	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw
C 10	0,04	0,03	0,05	0,03	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05	0,00
C 12	0,06	0,01	0,06	0,01	0,06	0,01	0,06	0,01	0,06	0,02
C 14	2,69	0,45	2,22	0,36	2,43	0,52	2,54	0,62	2,39	0,63
C 14:1 c9	0,74	0,22	0,56	0,08	0,58	0,18	0,65	0,31	0,58	0,22
C 15	0,29	0,07	0,69	0,08	0,26	0,04	0,31	0,02	0,26	0,07
C 16	28,28	1,48	24,88	1,64	27,13	2,30	26,02	2,81	25,92	1,19
C 16:1 t9	0,18	0,03	0,29	0,01	0,19	0,02	0,18	0,00	0,19	0,02
C 16:1 c9	4,02	0,38	2,72	0,41	3,55	0,74	3,56	0,21	3,31	0,71
C 17	0,81	0,14	1,48	0,10	0,78	0,06	0,90	0,02	0,80	0,13
C 18	14,37	2,45	22,35	1,73	15,42	1,92	16,98	0,98	16,78	2,20
C 18:1 t9	0,28	0,04	0,40	0,08	0,28	0,06	0,33	0,08	0,32	0,10
C 18:1 t11	0,96	0,77	2,55	0,22	1,08	0,21	0,94	0,29	1,03	0,47
C 18:1 c9	41,81	3,20	33,45	2,76	39,73	3,19	41,07	1,98	39,58	2,75
C 18:1 c11	2,01	0,32	1,85	0,05	2,13	0,19	2,03	0,35	2,04	0,12
C 18:2 c9,c12	1,79	0,13	2,75	0,87	3,91	1,06	2,59	1,43	4,04	1,44
C 18:3 n6	0,01	0,02	0,02	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C 20	0,08	0,03	0,18	0,02	0,10	0,01	0,11	0,01	0,10	0,01
C 18:3 n3	0,13	0,01	1,37	0,28	0,15	0,04	0,13	0,06	0,16	0,05
C 20:1 c11	0,17	0,05	0,08	0,01	0,17	0,03	0,16	0,01	0,15	0,03
C 20:3 n6	0,19	0,06	0,23	0,09	0,20	0,11	0,07	0,02	0,26	0,14
C 20:4 n6	0,53	0,12	0,82	0,31	0,93	0,57	0,27	0,13	1,22	0,62
C 22:2 n6	0,02	0,02	0,05	0,01	0,33	0,55	0,42	0,56	0,07	0,07
C 22:4 n6	0,15	0,05	0,08	0,03	0,20	0,10	0,06	0,04	0,22	0,07
SFA	46,63	3,49	51,89	2,09	46,22	2,75	46,95	4,41	46,36	1,29
MUFA	48,75	3,83	38,65	3,15	46,16	3,30	47,47	1,83	45,67	2,25
PUFA	3,15	0,28	5,78	1,52	6,02	1,50	4,13	2,21	6,26	2,32
TFA	1,43	0,82	3,24	0,21	1,54	0,27	1,44	0,37	1,54	0,55
CLA	0,34	0,07	0,56	0,10	0,29	0,04	0,47	0,18	0,30	0,03

0,00 entspricht < 0,01

Mamma- und Ovargewebe

Tabelle 6.22 FSME-Gehalte der Fett- und Tumorgewebebeobachten (Mamma und Ovar; in g/100 g FSME)

FSME	Mammatumor (n=10)		Mammafett b (n=7)		Mammafett c (n=10)		Ovartumor (n=6)		Ovarfett (n=6)	
	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw	MW	Stabw
C 10	0,05	0,04	0,07	0,07	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03
C 12	0,48	0,13	0,63	0,21	0,53	0,19	0,38	0,19	0,49	0,09
C 13	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01
C 14	3,53	0,68	4,13	0,59	4,06	0,67	2,49	1,00	3,43	0,60
C 14:1 c9	0,41	0,18	0,45	0,16	0,42	0,15	0,27	0,15	0,43	0,18
C 15	0,43	0,09	0,46	0,12	0,50	0,07	0,90	0,62	0,43	0,09
C 16	24,05	2,03	24,76	3,16	25,72	1,75	21,89	1,94	23,54	1,40
C 16:1 t9	0,26	0,30	0,28	0,36	0,23	0,30	0,11	0,18	0,10	0,21
C 16:1 c9	4,19	1,35	3,70	2,84	7,10	6,85	3,73	1,24	5,10	1,61
C 17	0,36	0,06	0,37	0,07	0,38	0,07	0,43	0,12	0,32	0,07
C 18	6,37	1,98	5,64	0,87	5,95	1,26	8,06	2,43	4,57	1,48
C 18:1 t9	0,54	0,29	0,71	0,45	0,55	0,26	0,51	0,22	0,74	0,33
C 18:1 t11	0,79	0,36	0,48	0,33	0,78	0,41	0,66	0,40	0,65	0,41
C 18:1 c9	41,37	3,03	42,24	2,50	41,27	2,96	34,39	9,12	43,38	1,67
C 18:1 c11	2,66	0,67	2,46	0,50	2,40	0,49	2,51	0,59	2,46	0,82
C 18:2 c9,c12	9,67	2,85	9,77	3,10	9,46	2,49	10,05	3,83	10,56	2,74
C 18:3 n6	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,21	0,19	0,09	0,16
C 20	0,18	0,09	0,16	0,05	0,20	0,06	0,28	0,19	0,11	0,07
C 18:3 n3	0,66	0,52	0,58	0,23	0,56	0,21	0,66	0,43	0,72	0,34
C 20:1 c11	0,74	0,57	0,51	0,42	0,70	0,49	0,33	0,62	0,61	0,24
C 20:2 n6	0,35	0,29	0,23	0,06	0,18	0,11	0,59	0,36	0,25	0,09
C 20:3 n6	0,59	0,49	0,29	0,11	0,32	0,14	1,35	1,05	0,30	0,14
C 20:4 n6	0,77	0,52	0,48	0,08	0,41	0,09	6,35	4,52	0,45	0,17
C 22:2 n6	0,10	0,07	0,05	0,05	0,10	0,08	0,17	0,22	0,02	0,02
C 20:5 n3	0,17	0,16	0,08	0,06	0,15	0,16	0,42	0,35	0,08	0,07
C 22:4 n6	0,38	0,32	0,21	0,18	0,29	0,14	0,97	0,77	0,09	0,14
C 22:6 n3	0,20	0,22	0,23	0,16	0,13	0,12	1,16	0,84	0,25	0,18
SFA	35,46	3,30	36,21	4,09	38,06	3,14	34,58	2,23	33,01	3,13
MUFA	49,40	3,75	49,37	2,87	46,20	7,29	41,66	10,25	51,86	3,35
PUFA	13,31	3,03	12,23	2,99	11,15	2,42	21,67	9,81	13,19	2,91
TFA	1,64	0,59	1,48	0,51	1,51	0,45	1,60	0,70	1,51	0,37
CLA	0,62	0,34	0,53	0,19	0,49	0,19	0,54	0,18	0,60	0,17

Humanplasma

Tab. 6.23 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den CE, Proband Nr. 4

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
C 18:1 t6-t8	0,1	1,0	1,0	0,2	0,5	0,5	1,4	1,6	0,8	1,6	2,9	10,8	14,1	14,5	15,6	5,0	n.v.	n.v.	1,4
C 18:1 t9	0,1	0,8	0,8	0,2	0,4	0,5	0,8	0,8	0,9	2,2	1,7	8,5	10,0	3,6	4,7	7,2	n.v.	n.v.	1,1
C 18:1 t10	0,2	0,0	1,6	0,1	0,5	0,4	0,4	0,5	0,7	1,3	0,8	6,0	13,1	9,4	6,7	9,0	n.v.	n.v.	0,7
C 18:1 t11	0,6	2,1	1,3	0,2	0,9	0,8	1,0	0,9	0,7	1,0	1,2	3,5	9,5	7,5	5,2	10,0	n.v.	n.v.	0,8
SFA	51,2	83,6	131,8	78,4	152,5	160,0	74,1	67,7	49,3	67,3	64,4	106,5	110,5	104,7	124,9	157,9	n.v.	n.v.	81,5
MUFA	88,4	151,8	207,0	135,7	121,9	132,5	133,6	121,0	81,5	140,5	126,7	179,2	232,9	197,2	235,9	259,0	n.v.	n.v.	163,6
PUFA	223,3	308,6	338,3	352,5	323,1	365,6	330,3	316,8	234,0	311,4	266,1	360,5	358,8	316,9	327,8	324,5	n.v.	n.v.	265,4
TFA	1,9	6,2	6,0	1,8	3,3	3,2	6,6	7,1	6,1	13,4	12,8	35,5	55,0	46,7	45,3	38,6	n.v.	n.v.	10,1
CLA	1,3	3,3	3,5	2,9	3,1	3,6	2,5	1,9	1,6	3,2	2,6	4,0	8,0	9,2	10,9	10,6	n.v.	n.v.	4,4
FSME	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
C 18:1 t6-t8	0,5	1,2	0,6	1,4	1,5	2,4	2,3	4,9	6,4	1,3	1,6	3,5	1,9	0,6	0,4	n.v.	n.v.	n.v.	0,5
C 18:1 t9	0,7	0,9	0,6	1,4	1,8	2,1	2,6	4,4	5,3	1,3	1,9	4,8	4,3	0,9	0,5	n.v.	n.v.	n.v.	0,6
C 18:1 t10	0,4	0,6	0,4	0,9	1,4	1,5	2,5	2,4	3,9	0,9	1,4	5,5	1,5	0,7	0,5	n.v.	n.v.	n.v.	0,4
C 18:1 t11	0,5	0,6	0,7	1,0	1,2	0,4	2,0	0,7	3,6	0,7	0,8	3,9	0,7	0,6	0,3	n.v.	n.v.	n.v.	0,4
SFA	66,6	93,1	175,8	133,0	124,3	121,4	81,1	96,9	108,8	67,2	65,1	101,1	110,5	58,4	55,7	n.v.	n.v.	n.v.	77,7
MUFA	135,3	160,2	158,6	136,0	144,4	185,2	141,0	191,4	204,7	136,9	125,1	188,3	168,3	108,2	96,6	n.v.	n.v.	n.v.	122,1
PUFA	298,2	316,1	369,7	318,7	358,0	366,2	333,9	332,0	324,2	319,2	231,5	270,1	305,4	267,9	235,2	n.v.	n.v.	n.v.	282,5
TFA	6,6	7,2	4,5	7,1	9,0	13,6	14,8	19,7	24,4	9,9	10,2	23,3	11,2	6,8	5,0	n.v.	n.v.	n.v.	4,7
CLA	3,5	3,7	3,8	3,0	2,6	5,2	3,5	5,3	5,4	4,3	4,6	4,0	3,7	1,9	1,7	n.v.	n.v.	n.v.	1,8

Tab. 6.24 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den TG, Proband Nr. 4

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
C 18:1 t6-t8	1,3	2,6	2,2	1,2	1,3	4,5	4,8	6,3	10,9	11,4	17,9	16,6	12,7	9,7	8,2	8,5	5,8	3,0	
C 18:1 t9	0,8	0,7	0,8	0,9	1,0	2,1	5,2	3,8	7,9	7,7	11,3	10,2	6,6	5,1	3,8	3,6	2,2	1,7	
C 18:1 t10	1,0	1,6	3,7	0,9	1,1	4,2	4,1	4,7	6,6	7,3	10,2	8,5	4,6	3,8	2,4	1,9	1,9	3,2	
C 18:1 t11	1,1	1,2	1,2	1,7	1,8	1,5	3,5	3,5	4,5	4,9	11,3	7,4	5,2	4,4	3,6	3,0	2,3	1,6	
SFA	115,0	113,3	128,1	120,3	116,0	139,9	119,9	79,0	86,5	68,7	91,0	73,7	64,4	66,8	61,1	94,2	114,0	147,6	
MUFA	153,2	143,8	156,6	153,0	143,4	171,4	176,4	108,3	126,4	106,9	143,6	116,9	96,8	87,5	90,0	129,5	154,2	225,4	
PUFA	44,5	72,0	80,4	57,7	48,1	57,6	52,9	26,3	41,2	42,5	47,6	30,6	43,6	40,1	35,4	32,9	70,6	55,6	
TFA	6,1	8,6	10,8	6,9	7,0	13,6	20,1	21,0	35,0	34,8	57,8	47,5	34,0	26,9	21,3	21,9	15,9	13,6	
CLA	4,4	6,7	5,1	4,8	4,1	3,7	3,7	4,7	5,4	5,8	7,0	7,7	8,7	7,0	7,0	6,4	5,2	6,6	
FSME	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
C 18:1 t6-t8	1,8	n.v.	2,1	7,6	8,9	8,9	6,6	6,9	7,8	10,8	4,9	9,4	8,2	4,5	3,4	0,9	1,6		
C 18:1 t9	1,4	n.v.	2,1	8,9	9,7	11,1	7,9	7,7	10,9	8,5	6,6	11,4	9,0	5,3	3,9	1,8	1,7		
C 18:1 t10	2,1	n.v.	1,5	7,1	8,2	8,6	6,1	6,1	8,2	6,4	9,4	9,3	7,0	4,8	2,4	1,1	2,5		
C 18:1 t11	1,4	n.v.	1,1	5,6	8,8	6,1	5,1	5,4	5,4	4,6	5,6	6,0	4,4	4,2	1,8	2,6	1,1		
SFA	163,7	n.v.	164,3	103,8	107,9	107,1	113,8	87,9	126,6	115,7	151,5	117,8	137,5	187,1	174,3	163,7	209,1		
MUFA	186,3	n.v.	232,9	140,7	146,7	141,5	126,2	115,9	196,3	177,6	231,2	204,2	188,9	232,4	218,9	220,1	238,1		
PUFA	73,9	n.v.	78,5	42,6	42,3	50,5	37,2	42,8	63,0	44,7	57,3	53,3	67,1	75,5	65,3	77,3	78,4		
TFA	9,8	n.v.	9,3	33,0	39,8	39,0	30,4	30,1	38,8	34,7	32,6	42,3	35,1	23,9	14,8	8,0	10,4		
CLA	5,3	n.v.	4,8	4,1	3,5	6,5	6,2	6,8	6,5	6,5	6,1	5,3	5,4	4,6	4,1	3,2	4,1		

n.v. = nicht vorhanden

Tab. 6.25 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den PL, Proband Nr. 4

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C :18:1 t6-t8	0,6	0,6	0,8	0,5	0,4	0,6	2,1	2,4	4,6	6,4	9,2	6,0	9,8	6,9	8,8	5,4	3,9	1,7
C :18 :1 t9	0,6	0,6	0,6	0,7	0,6	0,8	3,3	4,8	6,4	6,5	10,3	11,2	8,8	8,6	8,9	5,1	4,2	3,0
C :18 :1 t10	0,4	0,5	0,9	0,9	0,7	0,6	1,8	2,8	4,3	4,6	6,1	6,3	6,6	5,6	5,8	3,2	2,5	1,3
C :18 :1 t11	1,6	1,6	2,4	1,7	1,1	1,5	2,8	4,0	5,3	5,5	6,2	8,2	6,6	6,4	6,1	3,4	3,2	2,6
SFA	235,0	231,0	279,2	262,4	169,3	211,9	178,6	174,5	223,9	255,8	264,4	280,6	231,2	212,9	233,2	261,0	267,6	264,0
MUFA	73,5	74,3	82,8	80,2	55,6	64,5	61,9	63,1	89,3	104,7	117,8	124,9	112,0	99,7	109,0	122,8	111,1	98,7
PUFA	193,4	194,2	242,2	211,4	144,3	182,8	147,7	158,1	209,0	226,9	233,4	238,7	202,2	186,8	200,3	193,3	221,8	219,9
TFA	4,1	4,0	6,4	4,7	3,6	4,3	11,4	15,6	23,7	24,6	36,4	36,4	36,2	31,6	34,4	21,4	17,1	10,5
CLA	2,4	2,4	3,2	3,5	2,3	2,4	1,9	1,6	2,6	4,2	4,8	5,9	5,6	6,4	6,2	7,2	5,8	4,4
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
C :18:1 t6-t8	1,8	1,8	0,5	2,3	1,9	5,1	5,2	6,1	5,4	6,5	6,7	5,2	4,5	2,7	2,1	1,7	1,5	
C :18 :1 t9	1,9	1,8	0,8	2,7	4,2	5,5	5,2	6,9	6,4	6,0	6,1	5,3	4,8	3,5	2,5	2,0	1,8	
C :18 :1 t10	1,2	1,0	0,6	1,8	2,5	4,0	4,3	4,5	4,4	3,7	4,4	3,9	3,2	2,3	1,8	1,4	1,3	
C :18 :1 t11	2,7	2,3	1,9	3,1	4,2	5,6	4,8	5,3	5,3	4,2	4,7	4,2	3,7	3,1	2,7	2,6	2,4	
SFA	288,2	268,9	233,0	218,5	227,3	267,9	255,4	285,8	275,6	260,0	247,0	244,0	248,9	243,0	243,9	279,4	285,1	
MUFA	91,1	86,0	74,6	73,7	79,5	99,3	93,2	107,0	103,0	103,3	100,0	101,1	86,6	80,8	78,9	91,1	92,8	
PUFA	257,3	230,2	190,1	188,1	192,2	230,0	210,6	247,4	233,2	223,6	210,1	199,1	215,4	209,6	205,1	245,5	229,9	
TFA	9,0	8,1	4,5	11,1	14,2	22,7	22,3	26,2	24,1	23,0	24,5	20,8	18,1	13,5	10,5	9,0	8,3	
CLA	3,8	3,2	2,7	2,6	2,1	4,2	4,9	5,5	5,2	4,3	3,8	3,5	3,0	2,8	2,6	2,4	2,4	

Tab. 6.26 Relative FSME-Gehalte (in g/100 g FSME)) in den CE, Proband Nr. 5

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C :18:1 t6-t8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1
C :18:1 t9	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2
C :18:1 t10	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,1	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2
C :18:1 t11	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	1,2	0,2	0,0	0,2	0,2	1,1	0,2	0,2	0,1
SFA	17,1	15,9	17,3	16,4	17,3	16,4	17,8	18,0	16,5	18,4	17,6	17,4	18,5	16,3	18,4	15,5	17,0	16,0
MUFA	21,8	24,5	22,1	22,7	22,1	22,7	22,2	23,1	23,7	23,3	25,5	25,6	25,4	24,3	22,5	23,0	22,0	22,8
PUFA	57,7	57,8	58,6	59,1	58,6	59,1	57,4	55,9	56,9	54,0	53,9	54,1	53,2	56,1	54,8	58,4	58,8	59,1
TFA	1,1	0,9	1,1	0,9	1,1	0,9	1,3	2,0	2,0	3,1	2,0	2,0	2,0	2,3	3,2	2,2	1,3	1,3
CLA	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,6	0,5	0,4	0,7	0,5	0,4	0,5	0,5	0,6	0,5	0,4	0,4
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
C :18:1 t6-t8	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	
C :18:1 t9	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	
C :18:1 t10	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	
C :18:1 t11	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	1,1	0,3	0,1	0,1	0,0	0,2	0,2	0,2	0,1	1,0	0,9	
SFA	16,1	17,0	16,9	16,1	19,9	17,1	19,6	15,9	16,8	16,7	19,6	20,6	18,1	16,6	16,6	20,1	19,2	
MUFA	22,6	21,4	22,3	21,7	21,4	22,1	21,6	22,0	22,2	22,5	23,4	23,4	23,1	22,1	21,8	21,0	23,1	
PUFA	59,3	59,3	59,3	60,7	56,5	58,5	55,6	60,0	59,1	58,9	54,9	53,7	56,9	59,5	60,3	56,5	55,1	
TFA	1,5	1,0	0,6	1,2	1,7	1,8	2,5	1,7	1,4	1,5	1,7	1,7	1,3	1,5	1,0	1,9	2,0	
CLA	0,4	0,8	0,4	0,3	0,4	0,5	0,7	0,5	0,5	0,4	0,6	0,6	0,6	0,3	0,3	0,4	0,6	

Tab. 6.27 Relative FSME-Gehalte (in g/100 g FSME) in den TG, Proband Nr. 5

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4	0,3	1,2	1,5	1,6	1,9	1,1	0,9	1,5	0,6	1,3	1,8	0,6	0,6
C 18 :1 t9	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	1,8	1,9	2,7	2,9	1,0	1,7	2,6	1,2	2,3	2,2	0,6	0,9
C 18 :1 t10	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,1	1,5	1,8	2,3	2,3	1,0	1,3	2,0	0,9	1,8	1,9	0,4	0,9
C 18 :1 t11	0,5	0,4	0,5	0,5	0,4	0,5	1,5	1,7	1,7	1,6	1,1	1,2	1,5	0,7	1,6	1,3	0,4	0,8
SFA	32,4	26,5	32,4	30,7	33,1	35,0	31,8	36,0	27,9	27,6	34,6	28,9	27,8	23,6	28,2	18,5	31,7	25,7
MUFA	46,8	40,5	46,8	44,2	45,6	41,2	43,9	40,7	46,7	44,4	42,8	49,7	47,0	45,7	46,2	45,4	46,6	49,6
PUFA	18,1	16,1	18,1	22,1	19,1	21,4	16,3	15,2	15,0	17,2	16,6	14,5	15,6	25,6	16,5	27,4	18,7	20,0
TFA	1,7	1,3	1,7	1,6	1,6	1,4	6,7	7,4	9,0	9,6	4,6	5,6	8,4	3,9	7,7	7,8	2,3	3,6
CLA	0,9	0,8	0,9	1,4	0,7	1,1	1,4	0,7	1,4	1,2	1,3	1,2	1,2	1,1	1,3	0,9	0,8	1,1
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
C 18:1 t6-t8	0,5	0,2	0,4	0,5	1,0	1,2	0,6	1,0	0,2	1,1	0,8	0,5	0,8	0,4	0,9	1,0	0,3	
C 18 :1 t9	0,8	0,2	0,2	0,7	1,5	1,6	1,0	1,1	0,5	1,7	1,5	1,0	1,5	0,6	0,9	1,0	0,2	
C 18 :1 t10	0,8	0,2	0,1	0,5	1,2	1,5	0,8	0,9	0,3	1,4	1,1	0,7	1,2	0,4	0,9	0,8	0,5	
C 18 :1 t11	0,6	0,3	0,6	0,7	1,0	1,4	0,8	0,6	0,4	0,9	0,9	0,7	1,2	0,6	1,1	1,0	0,7	
SFA	24,1	22,4	28,3	25,3	33,5	34,7	32,1	28,0	28,8	32,3	29,0	26,9	29,3	26,5	30,2	33,0	36,1	
MUFA	44,9	48,7	47,2	41,5	43,4	44,6	42,8	45,2	45,8	45,9	47,7	49,6	45,0	47,2	48,4	45,1	45,2	
PUFA	27,1	27,1	21,6	29,3	16,9	13,0	19,9	21,7	22,8	15,6	17,4	19,1	19,1	22,8	16,2	16,5	16,0	
TFA	3,1	1,2	1,6	2,7	5,3	6,2	3,8	4,1	1,7	5,5	4,7	3,3	5,2	2,4	4,2	4,2	2,0	
CLA	0,9	0,7	1,4	1,3	0,9	1,4	1,3	1,0	0,9	0,7	1,2	1,1	1,3	1,1	1,0	1,2	0,7	

Tab. 6.28 Relative FSME-Gehalte (in g/100 g FSME) in den PL, Proband Nr. 5

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,3	0,2
C 18:1 t9	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,6	0,9	1,0	1,1	1,0	0,9	1,0	1,1	1,0	1,2	0,6	0,4
C 18:1 t10	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,7	0,4	0,3
C 18:1 t11	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,7	0,8	0,8	0,9	0,9	0,8	0,8	0,9	0,9	1,1	0,6	0,5
SFA	47,0	47,8	47,6	46,5	46,8	46,4	44,7	43,4	42,4	41,8	44,3	43,5	42,3	41,5	42,1	40,2	42,8	43,8
MUFA	13,6	13,9	13,5	13,1	13,1	13,9	14,3	14,9	15,2	16,0	16,1	15,8	16,1	15,0	15,2	14,8	14,8	14,9
PUFA	38,0	36,9	37,6	39,2	38,7	38,5	38,3	38,6	38,8	38,4	35,9	37,1	38,0	39,7	39,1	40,8	40,0	39,3
TFA	1,0	1,0	0,9	0,9	0,9	0,7	2,1	2,7	3,1	3,4	3,1	3,0	3,0	3,3	3,1	3,8	2,0	1,5
CLA	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
C 18:1 t6-t8	0,2	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	
C 18:1 t9	0,4	0,2	0,1	0,4	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,6	0,4	0,3	0,3	0,3	
C 18:1 t10	0,2	0,2	0,0	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	
C 18:1 t11	0,6	0,4	0,4	0,6	0,6	0,8	0,7	0,5	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,5	0,5	0,6	0,4	
SFA	42,4	43,0	44,1	44,5	43,2	44,1	45,4	45,0	46,0	46,0	45,1	44,7	44,2	45,0	45,6	45,7	46,3	
MUFA	13,7	14,0	13,5	12,3	14,0	14,8	14,4	13,0	13,4	15,0	15,6	16,1	15,0	13,1	13,9	13,8	14,9	
PUFA	41,9	41,4	41,3	41,0	40,2	38,2	37,4	39,5	37,9	36,7	36,6	36,1	37,9	39,9	38,7	38,6	37,2	
TFA	1,6	1,1	0,7	1,6	2,1	2,4	2,2	1,9	2,0	1,8	2,3	2,5	2,2	1,5	1,4	1,4	1,1	
CLA	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,5	0,6	0,5	0,7	0,4	0,5	0,6	0,6	0,5	0,4	0,5	0,4	

Tab. 6.29 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den CE, Proband Nr. 6

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	1,4	0,8	0,7	0,8	0,7	0,6	0,6	1,3	1,2	1,3	1,3	1,2	1,0	0,8	0,9	0,8	1,1	n.v.
C 18:1 t9	0,9	0,6	0,7	0,6	0,7	0,6	0,7	1,8	2,3	2,1	1,4	1,2	1,6	1,7	1,6	1,3	2,4	n.v.
C 18:1 t10	0,4	0,4	0,5	0,2	0,2	0,6	0,2	1,8	2,3	2,2	0,6	0,8	1,7	1,6	1,5	1,4	1,8	n.v.
C 18:1 t11	1,0	0,6	7,6	5,3	5,0	5,1	4,1	1,0	1,0	0,9	5,4	8,2	0,7	0,6	0,9	0,6	1,2	n.v.
SFA	103,6	81,2	94,3	89,0	91,7	88,6	76,7	94,6	89,2	91,6	84,3	91,1	80,3	65,2	69,7	76,3	92,2	n.v.
MUFA	140,5	129,2	113,0	113,7	130,3	129,1	104,4	156,1	156,6	153,4	109,3	108,3	126,0	114,1	109,6	123,3	147,0	n.v.
PUFA	241,3	217,1	221,5	219,9	259,4	229,1	203,8	274,4	254,1	266,8	202,7	235,0	235,6	193,1	205,5	228,9	243,6	n.v.
TFA	5,1	3,6	13,2	11,0	10,5	12,9	9,4	12,8	15,9	15,2	14,6	16,8	9,2	9,1	11,2	9,6	11,6	n.v.
CLA	3,8	3,5	3,7	3,4	3,1	2,3	2,2	3,3	3,0	3,5	4,1	4,4	3,1	2,0	1,9	2,4	3,2	n.v.
Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
C 18:1 t6-t8	0,5	0,6	0,3	0,5	0,7	0,8	0,8	n.v.	0,9	0,7	1,3	1,9	n.v.	2,2	2,1	1,0	1,3	
C 18:1 t9	0,8	0,6	0,3	0,6	0,8	1,0	0,8	n.v.	1,2	0,9	1,2	1,5	n.v.	1,6	1,9	0,7	0,6	
C 18:1 t10	1,2	0,3	0,2	0,5	0,5	0,6	0,6	n.v.	0,6	0,5	0,8	1,1	n.v.	1,3	1,9	0,5	0,4	
C 18:1 t11	0,4	0,9	0,2	0,0	0,4	0,6	0,6	n.v.	0,5	0,4	0,6	0,8	n.v.	0,0	0,0	0,0	0,0	
SFA	76,0	67,2	60,7	58,7	77,4	87,3	73,6	80,1	80,1	66,1	70,8	91,6	n.v.	125,9	113,0	108,0	92,3	
MUFA	148,3	149,0	115,8	129,4	145,7	150,7	142,4	150,5	150,5	119,6	133,8	134,5	n.v.	176,8	165,7	209,1	169,5	
PUFA	244,4	239,3	198,0	210,9	247,6	241,0	274,0	292,0	266,9	273,3	273,3	255,2	n.v.	310,1	312,4	367,6	380,3	
TFA	5,0	5,0	2,9	4,0	5,1	6,1	6,1	6,9	6,4	8,2	8,2	9,7	n.v.	9,1	10,2	5,2	5,1	
CLA	2,3	1,9	1,8	1,6	2,0	2,1	2,8	2,9	2,9	2,3	3,0	2,7	n.v.	4,5	4,8	2,9	3,2	

Tab. 6.30 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den TG, Proband Nr. 6

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	2,6	2,6	2,2	1,0	5,3	4,7	11,1	14,1	14,0	7,2	9,7	8,5	12,1	10,2	11,0	8,8	3,4	5,0
C 18:1 t9	2,6	3,1	4,0	2,7	5,0	5,6	13,0	17,0	19,8	9,5	14,0	9,5	25,6	21,0	11,6	9,2	5,4	3,3
C 18:1 t10	1,7	1,8	2,0	1,5	5,1	5,8	11,9	14,9	15,6	7,9	11,8	8,6	16,0	14,7	12,5	9,8	3,6	13,7
C 18:1 t11	3,6	3,7	2,8	2,6	5,2	6,5	9,7	10,0	12,1	7,3	10,0	8,2	8,2	9,1	10,4	10,3	3,2	8,5
SFA	277,2	284,8	267,5	220,0	322,2	280,1	327,2	273,3	230,6	305,5	245,8	356,9	205,7	190,9	278,9	291,4	231,6	452,9
MUFA	396,9	332,4	392,4	346,1	300,1	359,8	314,7	393,0	385,7	349,1	370,8	333,6	437,3	421,8	359,1	340,7	392,3	385,1
PUFA	125,7	114,9	114,5	113,4	95,4	124,1	122,1	90,0	82,1	95,4	165,5	101,4	111,2	102,9	99,0	99,3	173,0	126,2
TFA	16,2	13,8	16,3	11,2	23,6	25,7	51,2	62,5	69,5	35,2	52,8	40,1	70,2	63,6	49,8	42,1	24,3	36,7
CLA	12,1	4,8	8,9	6,5	4,3	5,4	6,3	19,6	14,5	7,2	12,8	9,0	20,8	13,0	8,2	9,8	24,6	19,5
Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
C 18:1 t6-t8	n.v.	2,9	4,1	8,3	6,2	5,4	6,1	11,5	7,0	7,3	4,5	4,8	2,4	2,7	3,0	2,2	3,0	
C 18:1 t9	n.v.	2,6	4,9	8,9	6,3	12,3	5,6	14,8	14,3	8,7	8,6	3,3	3,5	3,2	5,4	2,8	2,8	
C 18:1 t10	n.v.	10,3	9,8	6,3	5,5	9,2	26,5	19,8	14,2	12,4	12,4	3,0	1,5	1,2	1,4	3,9	3,6	
C 18:1 t11	n.v.	19,4	13,0	4,6	9,5	13,2	28,1	13,8	10,8	6,1	11,2	1,9	1,9	1,7	1,8	5,7	3,4	
SFA	n.v.	487,7	212,6	253,3	393,1	286,1	306,2	314,5	314,5	247,0	130,8	184,4	220,0	257,0	202,9	279,4	276,4	
MUFA	n.v.	415,3	382,6	347,5	309,5	428,1	249,9	334,4	349,9	217,0	186,5	149,8	213,7	233,8	214,6	395,7	252,9	
PUFA	n.v.	105,7	147,3	93,2	76,2	111,7	118,6	101,7	92,5	82,6	50,3	63,5	73,8	60,5	85,9	92,2	45,8	
TFA	n.v.	39,1	45,3	33,1	32,2	46,6	72,1	66,6	55,9	37,6	38,9	15,8	11,1	11,9	13,0	21,1	14,6	
CLA	n.v.	14,8	25,2	8,2	8,5	13,8	8,3	6,0	11,6	4,0	6,5	2,8	7,2	10,7	10,0	6,6	8,5	

n.v. = nicht vorhanden

Tab. 6.31 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den PL, Proband Nr. 6

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	1,1	0,8	0,8	0,8	1,1	0,9	3,3	6,1	7,0	5,3	5,3	3,5	4,5	5,0	4,1	2,8	2,0	2,0
C 18:1 t9	0,9	1,1	1,1	1,1	1,8	1,7	6,2	10,8	12,9	11,3	11,3	7,2	8,2	9,8	8,8	5,7	3,6	2,2
C 18:1 t10	0,3	0,4	0,4	0,3	0,8	0,7	3,2	4,8	6,8	6,3	4,7	3,9	4,3	5,6	4,8	2,9	1,7	1,2
C 18:1 t11	1,9	1,8	1,4	1,3	2,3	2,2	5,4	6,6	8,2	8,7	8,5	5,7	5,4	6,6	6,8	5,1	3,1	2,6
SFA	368,4	343,8	320,4	311,5	325,2	337,7	345,2	330,9	297,9	313,8	304,1	293,7	277,1	275,1	280,5	273,6	293,7	366,2
MUFA	132,7	113,4	119,9	108,8	102,7	108,6	129,4	154,5	149,3	137,0	113,0	115,4	130,6	130,9	126,1	109,1	121,8	126,4
PUFA	262,1	300,4	247,9	255,9	314,1	311,2	319,9	267,8	256,5	290,6	283,0	275,4	240,2	227,5	262,1	261,5	257,4	313,7
TFA	5,8	5,2	4,7	4,8	6,8	6,6	20,8	33,3	40,6	35,7	35,7	23,3	25,9	31,1	27,5	18,6	11,9	9,5
CLA	6,3	3,1	4,4	4,1	3,0	2,6	3,5	6,2	8,1	5,1	4,3	4,7	5,9	6,0	4,5	4,7	4,6	3,2
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
C 18:1 t6-t8	2,2	2,1	1,6	2,4	2,3	4,2	3,2	3,7	4,8	3,3	4,8	4,7	1,9	1,7	1,2	1,7	1,5	
C 18:1 t9	2,1	1,9	1,0	3,1	3,4	5,1	3,4	3,7	5,0	5,1	6,7	6,7	2,8	1,7	2,3	1,9	1,7	
C 18:1 t10	0,9	0,8	0,8	1,6	1,6	3,0	2,0	2,4	2,5	2,1	3,0	3,7	1,5	1,2	0,9	1,2	1,3	
C 18:1 t11	2,5	2,0	1,4	2,6	3,8	4,9	3,3	3,7	4,1	3,6	3,8	4,4	2,5	2,0	2,9	2,2	2,7	
SFA	347,2	320,2	306,7	318,4	349,1	297,1	285,3	292,4	305,1	312,6	291,1	302,9	336,8	322,7	363,9	377,5	327,5	
MUFA	142,1	159,4	134,9	132,3	134,1	129,6	107,0	97,3	124,1	107,0	121,5	97,1	107,1	115,7	125,8	139,1	111,4	
PUFA	246,1	273,5	228,3	220,0	267,7	229,3	244,0	269,0	234,1	280,5	226,6	238,9	256,9	254,5	283,1	271,4	293,7	
TFA	9,3	8,1	7,7	11,5	12,7	20,3	13,5	17,3	19,4	16,1	21,4	24,5	9,9	7,8	9,0	8,7	8,3	
CLA	4,4	4,6	5,9	3,5	3,7	4,6	4,6	3,0	4,4	3,9	4,6	3,7	3,1	3,4	3,3	4,3	2,7	

Tab. 6.32 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den CE, Proband Nr. 7

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	0,3	0,3	0,4	0,3	0,5	0,5	1,0	2,7	5,2	4,2	11,4	7,0	5,9	6,6	6,2	0,8	1,6	5,3
C 18:1 t9	0,4	0,4	0,4	0,5	0,6	0,8	2,2	3,0	5,2	3,4	7,1	11,0	5,4	6,1	5,4	1,1	2,5	4,7
C 18:1 t10	0,4	0,4	0,4	0,3	0,5	0,6	1,5	2,1	6,7	5,9	7,1	10,0	4,4	4,9	3,9	0,8	1,2	3,2
C 18:1 t11	0,5	0,5	0,6	0,7	0,7	1,2	1,9	2,3	5,4	4,2	3,8	5,7	3,6	3,9	2,9	0,8	1,3	2,5
SFA	59,3	63,6	64,0	73,9	87,3	134,2	121,9	145,7	114,7	130,0	106,1	114,3	68,3	66,1	92,2	61,0	65,4	79,7
MUFA	101,2	102,8	109,4	134,1	144,6	140,2	133,0	145,0	207,5	172,7	194,4	196,7	128,2	113,8	161,2	129,3	129,4	149,6
PUFA	266,8	250,5	229,3	272,5	278,6	299,5	299,3	331,3	264,4	285,8	312,0	289,6	232,3	237,7	258,7	246,9	229,1	222,6
TFA	2,9	2,9	3,2	3,6	4,1	5,0	9,4	14,1	29,0	24,3	38,5	40,6	24,8	26,6	25,2	7,4	10,9	20,8
CLA	1,2	1,2	1,4	1,7	1,7	2,0	1,7	2,3	4,2	5,1	4,9	4,7	2,9	2,5	3,1	2,5	2,7	3,1
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
C 18:1 t6-t8	1,4	0,6	0,9	1,5	2,2	0,9	0,8	0,9	1,4	1,4	2,1	0,0	1,1	0,9	0,6	0,9	0,9	
C 18:1 t9	1,4	0,8	0,9	2,2	3,1	1,1	0,9	1,3	1,5	1,6	2,0	2,8	1,3	1,7	1,0	1,3	0,9	
C 18:1 t10	0,9	0,6	0,8	3,6	3,7	0,7	0,7	0,8	0,9	1,1	1,4	3,2	1,0	2,0	0,7	0,6	0,6	
C 18:1 t11	1,0	0,5	0,5	2,5	2,9	0,5	0,7	0,6	0,7	0,8	0,9	1,2	0,6	1,0	0,3	0,5	0,5	
SFA	102,5	76,1	94,3	93,8	102,7	63,9	52,1	63,8	67,3	75,4	85,5	91,6	69,3	105,8	61,8	69,8	72,8	
MUFA	188,7	150,2	160,6	175,9	184,0	120,7	103,7	128,6	134,4	144,7	161,7	155,7	113,7	148,6	123,0	134,2	143,1	
PUFA	241,8	310,2	264,1	317,1	306,9	305,9	217,0	246,3	274,3	284,8	322,7	273,5	305,8	333,6	304,3	329,6	287,2	
TFA	8,3	5,8	3,6	11,5	13,9	4,8	5,5	6,0	8,4	9,0	10,0	9,7	7,7	7,5	4,9	4,8	5,0	
CLA	3,3	2,6	1,8	2,8	2,7	2,0	1,7	2,6	2,8	2,7	3,0	2,8	1,9	2,3	2,1	1,9	1,8	

Tab. 6.33 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den TG, Proband Nr. 7

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	0,9	1,3	0,8	1,4	0,9	0,9	7,0	6,7	4,8	3,8	9,6	6,5	5,7	7,2	6,4	0,8	1,8	1,9
C 18:1 t9	0,8	1,8	0,9	1,4	1,0	1,0	7,7	5,5	7,6	6,0	14,2	7,9	5,5	7,5	7,8	2,5	2,4	1,7
C 18:1 t10	1,2	2,3	1,3	1,0	0,8	0,7	6,2	4,4	6,2	4,8	11,8	6,5	4,3	5,9	5,4	4,1	1,7	1,3
C 18:1 t11	0,7	1,9	1,1	0,8	0,8	0,9	5,0	3,2	5,5	5,8	8,8	4,7	3,3	4,4	3,8	2,9	1,9	1,1
SFA	95,6	105,8	133,7	106,7	78,6	76,3	77,7	91,3	88,4	109,6	72,2	69,6	70,6	58,1	60,5	76,4	64,7	52,8
MUFA	176,8	210,2	196,4	189,4	138,1	127,8	125,4	143,5	143,5	143,0	141,4	130,1	112,4	100,7	107,1	150,1	123,1	97,2
PUFA	67,8	68,7	54,3	54,6	52,2	53,6	38,2	40,0	73,4	71,7	77,4	94,0	71,7	40,7	45,1	49,9	42,4	37,5
TFA	4,8	9,9	6,3	6,6	4,9	4,9	29,3	22,9	29,5	25,4	52,4	29,8	22,6	28,6	28,1	12,3	10,3	9,5
CLA	2,2	4,4	4,3	3,3	2,6	2,4	3,4	5,0	10,0	11,1	9,1	9,0	9,6	8,7	8,0	7,6	5,0	5,4
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
C 18:1 t6-t8	0,6	0,8	0,7	2,8	3,4	5,9	2,0	2,1	3,1	1,5	6,7	3,7	7,3	1,2	1,5	1,3	0,6	
C 18:1 t9	1,0	1,2	1,2	4,4	5,7	5,9	4,1	4,2	7,2	4,2	5,0	5,5	5,5	2,5	2,0	1,9	0,8	
C 18:1 t10	0,7	0,9	0,9	3,5	4,8	4,3	3,1	3,3	5,8	2,2	4,8	4,1	4,4	1,6	1,6	1,1	0,6	
C 18:1 t11	1,0	1,1	4,5	2,4	3,8	2,9	2,7	3,8	6,9	8,1	3,6	2,7	2,4	1,6	1,8	1,1	0,8	
SFA	72,4	54,3	95,5	90,2	91,2	97,0	102,3	102,2	130,1	137,0	81,4	88,7	78,0	84,4	80,4	91,3	60,3	
MUFA	119,2	85,5	141,9	139,4	148,9	187,9	173,5	139,0	193,8	216,1	151,3	145,2	118,0	172,0	134,7	160,2	107,0	
PUFA	54,2	36,8	65,0	87,1	82,9	61,3	59,6	37,0	61,1	82,9	42,1	95,2	78,4	112,7	46,5	64,1	53,1	
TFA	4,9	4,9	8,8	16,3	21,2	21,7	14,2	15,7	25,7	22,6	23,1	18,9	22,7	9,4	8,4	7,1	4,4	
CLA	4,1	1,9	2,8	5,1	4,5	3,3	3,3	3,8	4,5	5,8	3,9	3,9	3,3	3,5	2,5	2,6	1,9	

Tab. 6.34 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den PL, Proband Nr. 7

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	0,7	0,8	0,6	0,9	0,7	0,8	2,9	3,9	5,8	7,2	7,2	6,8	4,9	5,1	5,7	4,7	3,7	2,2
C 18:1 t9	1,1	1,4	1,0	1,1	1,2	1,3	5,4	6,1	5,4	6,0	7,2	7,9	8,8	6,7	6,7	6,3	4,4	2,7
C 18:1 t10	0,5	0,5	0,4	0,6	0,5	0,6	2,9	3,5	3,7	4,1	4,5	4,7	4,4	3,8	4,5	3,5	2,7	1,5
C 18:1 t11	2,6	3,6	1,8	1,7	3,0	2,2	5,0	5,5	4,8	5,2	5,3	6,4	6,6	6,1	5,8	5,8	5,6	3,6
SFA	216,8	232,8	214,2	239,3	215,1	213,6	227,9	249,1	204,9	239,9	229,2	224,7	214,2	188,7	193,0	216,1	227,6	203,7
MUFA	66,4	74,4	78,4	82,5	75,1	72,6	94,6	97,7	86,7	101,3	97,3	93,2	87,6	72,6	75,1	86,7	94,0	78,4
PUFA	197,5	201,7	171,3	201,9	188,8	192,9	207,6	218,3	182,9	221,0	223,8	223,7	196,0	182,2	165,5	197,7	202,4	182,8
TFA	5,6	7,0	4,6	5,2	6,2	5,6	17,4	21,5	22,3	25,6	27,1	28,8	27,7	24,1	25,8	22,6	18,4	11,3
CLA	1,5	1,7	1,9	2,3	1,8	2,0	2,7	2,8	3,0	3,8	3,6	3,4	3,6	2,7	3,0	2,9	3,2	3,1
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
C 18:1 t6-t8	1,9	1,6	0,6	1,7	2,3	3,5	3,3	2,5	4,3	3,2	3,8	3,0	3,3	2,5	2,2	1,5	1,3	
C 18:1 t9	2,1	1,7	0,7	2,3	3,4	4,1	4,3	3,5	4,6	4,3	5,0	4,7	4,3	3,4	2,6	2,3	1,6	
C 18:1 t10	1,5	1,1	0,5	1,0	1,6	2,3	2,4	1,6	2,8	2,3	2,7	2,5	2,0	1,9	1,5	1,1	1,0	
C 18:1 t11	2,6	2,3	1,5	2,1	3,1	3,4	3,1	3,0	3,8	3,4	4,0	3,6	4,4	2,9	2,8	2,4	2,2	
SFA	227,9	219,2	244,6	200,9	219,9	234,5	187,1	221,1	245,7	239,6	223,7	197,4	241,0	215,8	230,2	229,5	240,9	
MUFA	83,2	78,2	78,5	66,1	76,0	85,7	76,9	85,6	91,2	91,6	88,1	75,1	90,7	76,0	82,4	81,6	81,1	
PUFA	208,0	198,1	215,7	177,5	190,4	209,3	163,7	181,8	216,1	200,1	195,2	182,6	224,4	202,6	207,2	202,3	222,7	
TFA	9,1	7,6	4,0	8,3	11,9	14,7	14,4	12,8	17,9	15,2	17,5	16,2	15,6	11,9	10,2	8,2	7,0	
CLA	2,8	2,5	2,1	1,9	2,1	2,2	2,2	4,2	3,2	3,9	3,3	2,3	2,6	2,0	2,2	2,2	2,0	

Tab. 6.35 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den CE, Proband Nr. 8

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	0,4	1,7	0,8	0,6	1,4	0,9	8,8	12,3	8,6	9,1	6,9	n.v.	9,0	11,4	1,0	1,3	0,7	0,4
C 18:1 t9	0,4	1,6	0,7	0,7	1,7	1,0	14,7	14,5	14,8	18,2	16,5	n.v.	7,6	13,0	1,0	2,1	1,2	0,6
C 18:1 t10	0,4	1,8	0,7	0,5	1,1	1,1	12,9	13,9	11,0	10,9	10,0	n.v.	5,7	12,0	1,6	4,2	17,7	0,6
C 18:1 t11	0,3	1,1	0,6	0,4	1,1	0,9	12,6	11,3	7,6	8,2	8,4	n.v.	2,5	0,0	1,0	5,4	7,9	0,4
SFA	116,7	211,3	160,9	131,9	157,7	251,8	205,7	300,2	154,5	159,9	151,5	n.v.	158,8	188,5	226,0	150,0	126,9	141,6
MUFA	247,8	354,5	273,0	296,7	234,0	349,0	338,2	423,0	288,7	313,3	334,8	n.v.	290,1	253,3	332,7	276,3	274,6	245,0
PUFA	326,2	350,2	368,1	429,5	392,7	371,9	417,0	461,1	373,3	430,8	367,4	n.v.	395,0	329,9	382,5	355,1	380,7	348,5
TFA	3,8	10,1	5,3	5,4	8,0	8,0	55,9	60,7	49,9	56,1	54,2	n.v.	45,9	51,9	14,7	21,4	35,3	6,8
CLA	2,4	4,2	2,7	3,7	3,3	6,4	7,8	6,7	6,2	6,8	7,6	n.v.	9,5	6,9	4,3	7,6	4,7	3,1
C 18:1 t6-t8	0,9	1,0	1,3	0,0	5,7	4,6	4,6	3,0	4,5	0,8	1,8	1,2	0,8	n.v.	0,9	1,2	1,6	
C 18:1 t9	1,5	2,0	2,5	0,0	9,6	8,5	6,8	9,4	9,0	0,6	2,2	1,2	0,9	n.v.	1,1	1,7	4,0	
C 18:1 t10	3,8	1,7	3,5	3,9	6,5	7,9	6,0	5,7	5,7	1,4	1,5	2,4	0,7	n.v.	0,9	3,6	3,3	
C 18:1 t11	7,3	1,2	3,7	1,8	5,9	9,0	10,8	4,1	4,0	0,7	1,0	1,3	0,2	n.v.	0,6	6,4	16,2	
SFA	236,5	243,5	380,9	259,1	247,6	302,5	308,8	244,0	264,4	236,1	255,5	259,3	177,6	n.v.	258,1	137,6	234,7	
MUFA	312,9	350,5	368,3	394,1	309,1	366,4	371,3	300,0	298,8	246,4	257,3	324,6	271,6	n.v.	390,2	280,1	354,7	
PUFA	455,6	508,0	429,1	507,3	492,8	412,7	469,5	381,1	409,7	328,7	350,7	428,0	352,4	n.v.	493,1	421,8	375,3	
TFA	17,9	10,9	17,4	11,8	34,5	40,2	35,7	29,2	30,3	9,4	12,8	14,9	6,8	n.v.	9,4	12,1	15,8	
CLA	4,8	5,3	8,2	3,9	3,9	9,0	6,1	3,5	4,8	3,4	3,6	4,3	4,7	n.v.	4,5	9,9	8,9	

Tab. 6.36 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den TG, Proband Nr. 8

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	1,4	3,8	1,8	2,2	7,5	4,0	13,0	15,6	n.v.	21,2	47,3	23,2	38,1	51,6	16,3	3,1	1,2	2,2
C 18:1 t9	1,8	3,4	1,8	2,1	6,4	3,1	19,6	14,1	n.v.	21,0	29,0	30,6	29,3	23,3	12,0	5,8	3,8	2,1
C 18:1 t10	1,4	2,8	1,8	1,2	7,5	2,5	16,6	13,4	n.v.	19,4	28,3	38,6	28,3	22,9	16,6	12,8	3,3	1,3
C 18:1 t11	1,9	2,6	1,5	1,2	12,6	3,4	10,3	8,7	n.v.	11,6	19,5	25,0	20,8	14,3	17,1	4,4	3,5	1,1
SFA	257,2	186,2	295,2	252,1	226,8	217,7	179,3	235,2	n.v.	247,8	314,2	294,6	311,5	245,1	193,8	296,4	192,0	210,3
MUFA	345,0	271,4	291,4	420,8	320,2	258,7	272,7	274,0	n.v.	388,2	411,1	386,2	412,3	374,2	348,9	424,4	302,5	209,7
PUFA	67,5	123,6	61,9	149,1	98,4	132,4	106,3	94,9	n.v.	81,9	92,9	107,6	137,9	60,8	80,2	99,1	63,2	42,1
TFA	9,3	23,0	9,6	11,3	36,7	18,8	69,1	60,1	n.v.	83,3	137,6	139,9	126,6	120,9	74,2	31,0	14,9	9,3
CLA	3,8	10,3	3,1	8,6	5,2	9,5	14,4	12,6	n.v.	18,1	14,6	15,9	14,4	9,5	13,0	4,7	5,4	4,3
C 18:1 t6-t8	2,4	3,0	4,1	5,9	6,7	8,9	6,5	9,0	4,4	11,2	15,9	8,4	15,0	4,2	1,8	4,8	3,6	
C 18:1 t9	3,3	2,3	6,3	5,0	6,6	9,1	5,2	7,0	9,0	12,1	20,0	19,2	10,5	8,6	3,9	4,0	3,1	
C 18:1 t10	2,8	2,9	5,7	3,4	5,4	5,8	7,9	9,6	6,6	9,8	15,5	15,8	8,0	7,5	2,3	2,3	3,8	
C 18:1 t11	2,4	2,2	6,2	1,5	3,6	3,7	6,7	7,7	3,7	5,6	10,9	10,1	4,1	4,8	2,0	1,4	4,2	
SFA	168,1	213,0	305,2	274,9	174,2	251,7	302,8	392,7	258,5	291,6	396,1	426,3	262,6	349,1	274,8	276,0	271,3	
MUFA	238,1	283,6	394,6	300,7	266,7	361,9	277,8	388,2	440,5	397,7	490,3	481,0	378,2	448,2	422,2	433,5	359,5	
PUFA	58,0	75,0	38,7	49,5	59,3	58,7	38,4	77,3	72,7	69,9	110,8	90,9	104,7	67,5	119,1	116,9	98,1	
TFA	15,3	14,9	30,1	21,1	28,6	36,0	33,6	46,0	30,0	45,7	70,1	65,5	43,4	32,5	15,7	17,2	21,3	
CLA	5,1	6,9	7,0	5,9	7,8	11,0	10,9	9,3	9,5	10,2	8,0	8,9	8,5	7,2	9,3	6,5	7,0	

n.v. = nicht vorhanden

Tab. 6.37 Absolute FSME-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den PL, Proband Nr. 8

FSME	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
C 18:1 t6-t8	1,2	1,8	1,8	1,8	1,9	1,5	6,4	12,3	12,6	6,1	9,0	13,4	12,0	8,0	8,9	3,9	2,3	2,3
C 18:1 t9	0,8	1,3	1,4	1,3	1,7	0,9	5,4	8,4	8,7	11,4	8,0	12,7	9,3	8,8	9,2	4,6	3,4	2,0
C 18:1 t10	0,7	0,8	0,8	0,8	1,0	0,7	2,9	5,2	4,0	4,9	4,1	6,4	4,5	3,8	4,6	2,0	1,2	0,8
C 18:1 t11	1,3	1,6	1,5	1,6	2,7	1,7	3,9	6,1	4,5	6,5	5,1	7,5	5,8	5,8	5,6	2,7	2,8	2,2
SFA	383,4	405,5	443,6	361,6	405,1	355,8	351,5	453,6	425,3	357,3	355,3	445,8	448,2	377,3	335,4	320,5	334,0	331,7
MUFA	162,4	169,1	175,5	143,2	149,1	128,5	136,5	189,8	191,9	168,0	177,1	212,1	196,4	173,6	157,6	135,0	142,6	131,1
PUFA	282,5	312,7	319,7	274,3	316,3	291,4	288,8	382,5	319,8	270,3	241,3	305,9	323,3	267,5	253,8	229,3	231,1	242,7
TFA	4,9	6,9	7,0	6,6	8,8	5,9	21,6	36,6	35,5	34,2	31,8	48,0	38,1	31,5	33,1	15,7	11,6	8,7
CLA	3,3	3,1	3,4	3,0	3,6	3,1	3,5	5,4	6,5	6,9	7,3	8,5	8,5	6,8	6,8	4,3	4,6	3,8
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
C 18:1 t6-t8	1,5	1,7	1,5	5,2	5,2	7,2	8,1	8,4	10,1	7,6	9,4	11,2	5,6	5,6	3,6	2,5	2,0	
C 18:1 t9	2,2	2,8	1,7	3,8	4,6	5,0	7,9	8,0	10,4	7,6	8,7	8,7	5,8	4,4	3,4	2,8	2,8	
C 18:1 t10	1,0	0,8	0,9	1,4	2,0	2,3	3,9	5,0	7,5	2,5	6,2	5,2	3,0	2,5	1,7	1,5	1,2	
C 18:1 t11	2,3	2,8	2,7	3,2	3,5	3,7	5,8	1,6	7,6	3,5	5,8	6,2	4,3	3,5	3,1	2,4	3,2	
SFA	271,0	326,9	371,9	481,1	419,2	437,1	500,1	451,5	479,3	397,9	507,9	495,2	403,0	470,8	458,7	436,7	460,1	
MUFA	99,6	118,7	168,2	221,4	183,7	194,6	229,3	187,5	204,6	179,7	213,2	224,6	170,4	186,9	179,9	169,3	180,6	
PUFA	204,3	253,5	243,8	338,4	297,4	287,4	314,7	280,5	329,0	253,8	338,9	387,7	318,3	379,4	356,6	314,0	326,7	
TFA	8,3	9,6	9,3	17,4	18,7	22,3	31,1	32,5	38,7	24,8	33,7	36,6	21,6	18,6	14,0	11,3	12,0	
CLA	3,0	3,6	5,0	6,8	5,5	7,3	7,8	7,3	6,4	7,2	6,4	6,4	5,3	5,7	5,3	5,3	5,6	

6.16 HPLC-Ergebnisse

Tabelle 6.38 CLA-ME-Gehalte von Milch, Milcherzeugnissen sowie Käse

CLA-Isomer	Gehalt in g/100 g Gesamt-CLA			Stabw		
	Milch *)	Kondensmilch **)	Käse ***)	Milch	Kondensmilch	Käse
t13,t15	0,02	0,05	0,05	0,02	0,02	0,02
t12,t14	0,72	1,05	0,94	0,20	0,09	0,22
t11,t13	1,76	2,23	2,24	0,33	0,31	0,52
t10,t12	0,29	0,35	0,36	0,19	0,20	0,24
t9,t11	1,48	1,89	1,55	0,57	0,65	0,69
t8,t10	0,28	0,22	0,29	0,22	0,18	0,44
t7,t9	0,71	0,82	0,62	0,20	0,23	0,20
t6,t8	0,16	0,24	0,15	0,07	0,10	0,08
c/t 12,14	0,24	0,36	0,31	0,09	0,08	0,08
t11,c13	2,55	2,61	2,78	0,48	0,19	0,97
c11,t13	1,36	1,37	1,41	0,24	0,09	0,49
t10,c12	2,83	2,77	2,74	0,10	0,07	0,11
c9,t11	82,96	81,24	82,16	1,85	1,92	1,38
t8,c10	0,98	1,21	0,93	0,48	0,17	0,08
t7,c9	3,64	3,62	3,44	0,88	0,98	1,63

*) n=13

**) n=6

***) n=17

Tab. 6.39 CLA-ME-Gehalte von unterschiedlich gefütterten Ochsen und Bullen

CLA-Isomer	Gehalt in g/100 g Gesamt-CLA					Stabw				
	WGO *)	SGO *)	B KG *)	B 180 **)	B 270 *)	WGO	SGO	B KG	B 180	B 270
t13,t15	0,07	0,00	0,00	0,00	0,04	0,08	0,00	0,00	0,00	0,03
t12,t14	2,45	0,18	0,10	0,18	0,17	0,35	0,05	0,10	0,12	0,08
t11,t13	9,60	0,52	0,24	0,31	0,33	2,38	0,20	0,09	0,04	0,11
t10,t12	0,53	0,45	0,62	0,50	0,54	0,11	0,11	0,14	0,16	0,13
t9,t11	2,29	1,21	1,11	1,04	1,00	0,53	0,11	0,21	0,20	0,05
t8,t10	0,29	0,25	0,23	0,19	0,18	0,37	0,03	0,05	0,08	0,07
t7,t9	0,30	0,41	0,25	0,23	0,09	0,36	0,32	0,14	0,19	0,01
t6,t8	0,11	0,20	0,03	0,15	0,13	0,23	0,13	0,03	0,11	0,03
c/t 12,14	0,66	0,33	0,35	0,21	0,22	0,19	0,19	0,12	0,13	0,13
t11,c13	6,23	0,82	0,91	0,74	0,89	0,35	0,29	0,25	0,12	0,20
c11,t13	2,80	0,36	0,41	0,35	0,40	0,11	0,14	0,11	0,08	0,08
t10,c12	2,04	2,58	2,73	2,81	2,79	0,18	0,27	0,13	0,13	0,07
c9,t11	66,63	83,45	79,86	83,58	80,97	3,58	1,91	2,40	2,14	1,42
t8,c10	0,85	0,63	1,68	1,53	1,98	0,99	0,76	0,31	0,05	0,58
t7,c9	5,16	8,61	10,07	8,23	8,79	0,55	0,87	2,09	1,00	1,44

*) n=4

**) n=2

Mamma- und Ovargewebe

Tab. 6.40 CLA-Gehalte der Fett- und Tumorgewebeproben (Mamma und Ovar; in g/100 g Gesamt-CLA)

CLA-Isomer	Mamma			Stabw Mamma			Ovar		Stabw Ovar	
	a *) **)	b ***)	c +)	a	b	c	a **)	c **)	a	c
t12,t14	0,55	0,48	0,38	0,43	0,26	0,13	0,13	0,33	0,18	0,15
t11,t13	1,16	1,39	1,22	0,76	0,62	0,33	1,01	1,02	0,50	0,30
t10,t12	1,18	0,69	0,81	0,97	0,30	0,44	0,66	0,79	0,36	0,23
t9,t11	2,86	3,76	2,49	2,19	1,73	1,08	5,43	2,64	2,42	0,85
t8,t10	0,69	1,10	1,15	0,42	0,52	0,61	0,64	1,10	0,55	0,42
t7,t9	0,59	1,11	0,64	0,51	0,42	0,48	1,28	0,82	1,40	0,49
t6,t8	0,28	0,39	0,17	0,27	0,46	0,32	0,56	0,32	0,77	0,16
c/t 12,14	0,25	0,26	0,15	0,23	0,27	0,15	0,26	0,16	0,25	0,04
t11,c13	1,13	0,85	0,76	0,52	0,31	0,36	0,98	0,96	0,57	0,22
c11,t13	3,27	1,34	1,34	1,96	0,73	0,69	2,88	2,35	0,98	0,74
t10,c12	1,66	1,10	1,28	0,61	0,40	0,35	1,92	1,29	0,54	0,21
c9,t11	78,34	80,39	83,74	5,99	3,55	5,03	70,59	77,96	8,68	3,43
t8,c10	3,10	1,19	1,37	1,90	0,34	2,03	3,20	2,14	1,46	1,19
t7,c9	2,96	4,24	3,68	1,35	1,25	1,69	6,73	6,15	3,37	0,67

*) a = Tumorgewebe b = Fettgewebe am Tumor c = Fettgewebe weg vom Tumor

) n = 11 *) n = 7 +) n = 10 **) n = 6

Tab. 6.41 Eicosanoidgehalte (MW aus zwei Messwerten) der Humangewebe in ng/g Gewebe

Patient	PGE ₂	PGD ₂	PGF _{2α}
XII a	40,7	14,6	56,0
XIII a	388,2	15,7	215,4
IXX a	61,8	13,2	111,6
XVII a	187,8	39,8	229,2
XII c	6,42	n.n.	1,4
XIII c	n.n.	n.n.	n.n.
IXX c	33,5	n.n.	5,8
XVII c	12,0	n.n.	n.n.
XIII (infiltriertes Netz)	6012	52,8	1038
X a	43,5	n.n.	74,4
XVI a	154,6	n.n.	132,0
XXI a	52,6	n.n.	n.n.
XXIII a	368,0	76,2	409,0
X b	20,2	n.n.	6,1
XVI b	6,3	n.n.	n.n.
XXI b	n.n.	n.n.	n.n.
X c	n.n.	n.n.	n.n.
XVI c	39,7	n.n.	n.n.
XXIII c	6,1	n.n.	5,0

n.n. entspricht nicht nachweisbar

Humanplasma

Tab. 6.42 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den CE, Proband Nr. 4

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
t12,t14	0,00	0,01	0,01	0,01	n.v.	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	n.v.	0,00
t11,t13	0,01	0,02	0,03	0,01	n.v.	0,03	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	n.v.	0,00
t10,t12	0,04	0,06	0,05	0,11	n.v.	0,09	0,06	0,03	0,02	0,08	0,05	0,09	0,10	0,06	0,07	0,06	0,06	n.v.	0,07
t9,t11	0,06	0,10	0,08	0,16	n.v.	0,18	0,11	0,06	0,03	0,11	0,07	0,11	0,13	0,12	0,15	0,11	0,11	n.v.	0,13
t8,t10	0,00	0,00	0,00	0,00	n.v.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,03	0,05	0,02	0,03	n.v.	0,01	0,01
t7,t9	0,01	0,01	0,01	0,01	n.v.	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,09	0,14	0,12	0,12	n.v.	0,02	0,02
t11,c13	0,02	0,07	0,08	0,02	n.v.	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,03	0,04	0,11	0,05	0,08	n.v.	0,01	0,01
c11,t13	0,02	0,06	0,05	0,02	n.v.	0,03	0,02	0,03	0,04	0,08	0,04	0,07	0,09	0,09	0,16	0,16	n.v.	0,07	0,07
t10,c12	0,04	0,08	0,12	0,12	n.v.	0,13	0,10	0,09	0,05	0,14	0,11	0,17	0,16	0,12	0,17	0,19	n.v.	0,11	0,11
c9,t11	1,09	2,74	2,90	2,35	n.v.	2,95	2,07	1,58	1,27	2,41	2,03	2,95	5,80	6,91	8,01	7,87	n.v.	3,47	3,47
t8,c10	0,02	0,03	0,06	0,05	n.v.	0,05	0,04	0,04	0,05	0,06	0,05	0,04	0,22	0,18	0,31	0,30	n.v.	0,07	0,07
t7,c9	0,04	0,10	0,10	0,08	n.v.	0,09	0,10	0,07	0,11	0,29	0,25	0,49	1,33	1,41	1,79	1,71	n.v.	0,41	0,41
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
t12,t14	0,00	0,00	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	n.v.	0,00	0,00
t11,t13	0,00	0,01	0,02	0,05	0,01	0,02	0,01	0,03	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	n.v.	0,00	0,00
t10,t12	0,06	0,10	0,10	0,09	0,06	0,11	0,07	0,03	0,04	0,05	0,04	0,05	0,05	0,03	0,05	0,05	n.v.	0,05	0,05
t9,t11	0,13	0,19	0,22	0,17	0,11	0,24	0,12	0,06	0,09	0,11	0,11	0,09	0,09	0,04	0,07	0,07	n.v.	0,08	0,08
t8,t10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	n.v.	0,00	0,00
t7,t9	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,03	0,01	0,02	0,03	0,00	0,00	0,02	0,02	0,01	0,00	0,00	n.v.	0,01	0,01
t11,c13	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,05	0,02	0,04	0,02	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	n.v.	0,01	0,01
c11,t13	0,09	0,04	0,03	0,04	0,04	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,05	0,03	0,03	0,03	n.v.	0,03	0,03
t10,c12	0,13	0,17	0,18	0,17	0,08	0,08	0,06	0,04	0,05	0,06	0,06	0,05	0,09	0,08	0,09	0,09	n.v.	0,09	0,09
c9,t11	2,71	2,84	3,09	2,32	2,13	4,27	2,94	4,42	4,44	3,55	3,81	3,24	2,90	1,51	1,36	1,36	n.v.	1,39	1,39
t8,c10	0,05	0,06	0,03	0,05	0,04	0,10	0,05	0,10	0,08	0,04	0,08	0,06	0,06	0,03	0,02	0,02	n.v.	0,01	0,01
t7,c9	0,28	0,28	0,06	0,07	0,09	0,21	0,18	0,49	0,55	0,41	0,42	0,41	0,38	0,15	0,09	0,09	n.v.	0,09	0,09

0,00 entspricht < 0,01; n.v. = nicht vorhanden

Tab. 6.43 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den TG, Proband Nr. 4

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
t12,t14	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	
t11,t13	0,03	0,01	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03	0,07	0,05	0,05	0,04	0,02	0,04	0,00	0,03	0,02	0,05	0,03	
t10,t12	0,01	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03	0,06	0,05	0,07	0,09	0,10	0,07	0,03	0,02	0,02	0,01	0,08	0,03	
t9,t11	0,06	0,09	0,09	0,09	0,06	0,06	0,06	0,08	0,08	0,10	0,13	0,13	0,17	0,09	0,12	0,10	0,11	0,09	
t8,t10	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,03	0,04	0,08	0,03	0,04	0,01	0,04	0,00	0,01	0,01	
t7,t9	0,08	0,09	0,07	0,05	0,04	0,05	0,05	0,09	0,07	0,09	0,12	0,13	0,16	0,10	0,12	0,06	0,06	0,08	
t11,c13	0,06	0,13	0,11	0,08	0,07	0,05	0,03	0,08	0,10	0,03	0,03	0,05	0,05	0,07	0,02	0,05	0,03	0,09	
c11,t13	0,06	0,08	0,03	0,06	0,09	0,07	0,04	0,03	0,08	0,06	0,08	0,13	0,09	0,16	0,07	0,08	0,09	0,11	
t10,c12	0,08	0,13	0,07	0,08	0,06	0,07	0,06	0,07	0,13	0,11	0,10	0,22	0,12	0,13	0,18	0,14	0,11	0,12	
c9,t11	3,78	5,75	4,26	4,11	3,44	3,00	2,85	3,48	3,90	4,12	4,98	5,40	6,28	5,02	5,01	4,65	4,01	5,11	
t8,c10	0,04	0,03	0,05	0,06	0,03	0,06	0,05	0,05	0,04	0,06	0,08	0,07	0,16	0,19	0,20	0,18	0,05	0,20	
t7,c9	0,18	0,34	0,23	0,24	0,21	0,24	0,40	0,62	0,79	1,02	1,24	1,43	1,61	1,20	1,20	1,13	0,64	0,78	
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
t12,t14	0,01	n.v.	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	
t11,t13	0,05	n.v.	0,03	0,04	0,02	0,02	0,04	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,04	0,02	0,02	
t10,t12	0,06	n.v.	0,05	0,06	0,05	0,00	0,04	0,03	0,07	0,06	0,03	0,05	0,02	0,06	0,03	0,04	0,04	0,04	
t9,t11	0,10	n.v.	0,11	0,13	0,07	0,13	0,13	0,08	0,11	0,12	0,09	0,10	0,11	0,10	0,08	0,10	0,10	0,10	
t8,t10	0,01	n.v.	0,00	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	
t7,t9	0,08	n.v.	0,04	0,05	0,06	0,11	0,08	0,06	0,09	0,09	0,08	0,06	0,08	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	
t11,c13	0,06	n.v.	0,06	0,04	0,02	0,01	0,07	0,07	0,04	0,03	0,06	0,08	0,08	0,10	0,07	0,04	0,04	0,04	
c11,t13	0,06	n.v.	0,07	0,04	0,04	0,05	0,08	0,12	0,07	0,07	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,03	0,04	0,04	
t10,c12	0,09	n.v.	0,11	0,07	0,05	0,08	0,07	0,06	0,10	0,06	0,02	0,06	0,06	0,07	0,08	0,04	0,06	0,06	
c9,t11	4,18	n.v.	3,68	3,08	2,65	5,00	4,63	5,04	4,82	4,88	4,70	4,08	4,30	3,57	3,26	2,52	3,27	3,27	
t8,c10	0,10	n.v.	0,13	0,11	0,10	0,12	0,16	0,25	0,17	0,17	0,15	0,11	0,12	0,10	0,10	0,07	0,16	0,16	
t7,c9	0,49	n.v.	0,48	0,42	0,41	0,95	0,87	1,06	0,95	0,95	0,91	0,65	0,55	0,46	0,41	0,26	0,35	0,35	

0,00 entspricht < 0,01; n.v. = nicht vorhanden

Tab. 6.44 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den PL-, Proband Nr. 4

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
t12,t14	0,03	0,02	0,03	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	
t11,t13	0,04	0,03	0,06	0,04	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,04	0,04	0,04	0,06	0,03	0,02	0,02	0,02	
t10,t12	0,05	0,03	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04	0,03	0,06	0,05	0,07	0,11	0,06	0,04	0,05	0,03	0,03	0,06	
t9,t11	0,12	0,09	0,19	0,16	0,13	0,14	0,12	0,10	0,14	0,18	0,20	0,27	0,23	0,22	0,20	0,19	0,19	0,19	
t8,t10	0,02	0,00	0,02	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	
t7,t9	0,02	0,00	0,04	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,06	0,04	0,08	0,04	0,05	0,03	0,03	0,03	0,03	
t11,c13	0,02	0,03	0,03	0,04	0,02	0,02	0,01	0,01	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	0,05	0,03	0,03	0,03	0,04	
c11,t13	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,03	0,03	0,09	0,08	0,07	0,06	0,06	0,05	
t10,c12	0,06	0,05	0,10	0,07	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,08	0,08	0,10	0,08	0,09	0,10	0,05	0,04	0,09	
c9,t11	1,98	2,09	2,62	3,10	1,90	2,03	1,56	1,27	2,00	3,34	3,79	4,66	4,48	5,24	5,12	6,20	5,01	3,69	
t8,c10	0,02	0,01	0,03	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,05	0,07	0,08	0,08	0,08	0,07	0,08	0,06	0,03	
t7,c9	0,05	0,02	0,04	0,03	0,03	0,05	0,06	0,06	0,16	0,34	0,40	0,48	0,44	0,45	0,48	0,52	0,32	0,15	
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
t12,t14	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02		
t11,t13	0,04	0,03	0,03	0,03	0,02	0,05	0,04	0,04	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03		
t10,t12	0,08	0,04	0,04	0,04	0,03	0,06	0,06	0,03	0,03	0,05	0,03	0,04	0,06	0,03	0,04	0,06	0,04		
t9,t11	0,19	0,15	0,12	0,12	0,09	0,17	0,15	0,16	0,17	0,15	0,13	0,12	0,14	0,12	0,13	0,14	0,14		
t8,t10	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01		
t7,t9	0,03	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01		
t11,c13	0,04	0,03	0,03	0,03	0,02	0,05	0,05	0,06	0,04	0,03	0,03	0,04	0,04	0,02	0,06	0,05	0,02		
c11,t13	0,04	0,04	0,03	0,04	0,04	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,05	0,04	0,05	0,04	0,04	0,03		
t10,c12	0,09	0,09	0,08	0,07	0,06	0,09	0,11	0,11	0,11	0,09	0,09	0,09	0,08	0,06	0,08	0,09	0,09		
c9,t11	3,14	2,65	2,28	2,16	1,71	3,46	4,14	4,72	4,46	3,67	3,24	2,95	2,48	2,26	2,07	1,92	1,96		
t8,c10	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,04	0,05	0,04	0,03	0,02	0,04	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03		
t7,c9	0,10	0,08	0,05	0,05	0,06	0,15	0,17	0,21	0,19	0,17	0,16	0,14	0,11	0,10	0,06	0,05	0,05		

0,00 entspricht < 0,01

Tab. 6.45 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den TG, Proband Nr. 6

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
t12,t14	0,03	0,00	0,01	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,05	0,02	0,05	0,04	0,03	0,01	0,03	0,03	0,03	0,18	
t11,t13	0,05	0,06	0,05	0,04	0,05	0,07	0,10	0,17	0,12	0,06	0,16	0,11	0,04	0,02	0,06	0,09	0,27	0,09	
t10,t12	0,02	0,03	0,08	0,01	0,03	0,03	0,06	0,15	0,16	0,09	0,13	0,08	0,07	0,03	0,01	0,05	0,04	0,12	
t9,t11	0,24	0,11	0,20	0,13	0,09	0,13	0,11	0,34	0,25	0,13	0,24	0,17	0,28	0,17	0,14	0,20	0,39	0,56	
t8,t10	0,02	0,01	0,05	0,04	0,02	0,03	0,03	0,05	0,04	0,03	0,02	0,04	0,02	0,00	0,02	0,04	0,04	0,19	
t7,t9	0,15	0,07	0,11	0,07	0,04	0,07	0,08	0,32	0,11	0,01	0,16	0,11	0,22	0,06	0,04	0,12	0,33	0,12	
t11,c13	0,23	0,06	0,14	0,06	0,07	0,06	0,10	0,28	0,15	0,11	0,09	0,10	0,09	0,14	0,18	0,23	0,37	0,09	
c11,t13	0,13	0,06	0,10	0,07	0,06	0,15	0,13	0,30	0,30	0,09	0,19	0,09	0,36	0,15	0,10	0,18	0,25	0,08	
t10,c12	0,18	0,07	0,09	0,09	0,09	0,06	0,07	0,24	0,20	0,11	0,15	0,19	0,35	0,19	0,14	0,17	0,33	0,27	
c9,t11	10,08	3,97	7,46	5,56	3,55	4,33	4,63	14,04	10,16	5,03	8,95	6,25	14,90	9,65	6,27	7,47	19,71	16,23	
t8,c10	0,16	0,07	0,08	0,08	0,07	0,08	0,12	0,21	0,03	0,02	0,14	0,03	0,28	0,28	0,17	0,28	0,58	0,25	
t7,c9	0,79	0,25	0,53	0,32	0,22	0,33	0,84	3,54	2,92	1,46	2,48	1,77	4,12	2,27	1,05	0,95	2,20	1,32	
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
t12,t14	n.v.	0,09	0,01	0,01	0,03	0,02	0,04	0,03	0,06	0,00	0,00	0,00	0,08	0,06	0,02	0,01	0,03		
t11,t13	n.v.	0,17	0,03	0,02	0,05	0,02	0,09	0,02	0,07	0,00	0,01	0,01	0,08	0,05	0,05	0,03	0,07		
t10,t12	n.v.	0,06	0,03	0,14	0,06	0,08	0,10	0,05	0,13	0,06	0,01	0,00	0,07	0,20	0,10	0,03	0,07		
t9,t11	n.v.	0,22	0,63	0,22	0,23	0,16	0,15	0,11	0,18	0,09	0,18	0,08	0,18	0,30	0,17	0,13	0,16		
t8,t10	n.v.	0,16	0,28	0,03	0,22	0,02	0,04	0,03	0,08	0,03	0,09	0,07	0,11	0,06	0,03	0,03	0,11		
t7,t9	n.v.	0,17	0,37	0,14	0,20	0,14	0,11	0,12	0,19	0,09	0,12	0,04	0,11	0,12	0,18	0,05	0,11		
t11,c13	n.v.	0,05	0,28	0,05	0,03	0,10	0,02	0,02	0,08	0,05	0,07	0,04	0,07	0,04	0,32	0,08	0,16		
c11,t13	n.v.	0,26	0,26	0,11	0,13	0,19	0,08	0,09	0,08	0,06	0,12	0,07	0,13	0,21	0,05	0,07	0,08		
t10,c12	n.v.	0,30	0,55	0,16	0,19	0,35	0,15	0,08	0,13	0,08	0,12	0,04	0,14	0,20	0,22	0,21	0,20		
c9,t11	n.v.	12,37	20,26	6,40	6,24	10,34	6,08	4,39	8,57	2,80	4,64	2,00	5,33	8,22	7,78	5,34	6,86		
t8,c10	n.v.	0,16	0,71	0,21	0,17	0,28	0,17	0,11	0,22	0,09	0,08	0,09	0,16	0,23	0,22	0,06	0,09		
t7,c9	n.v.	0,82	1,84	0,76	0,99	2,08	1,23	0,90	1,84	0,59	1,02	0,33	0,70	0,98	0,87	0,51	0,56		

0,00 entspricht < 0,01; n.v. = nicht vorhanden

Tab. 6.46 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den PL-, Proband Nr. 6

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
t12,t14	0,06	0,02	0,04	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,04	0,02	n.v.	0,01	
t11,t13	0,08	0,05	0,06	0,07	0,04	0,04	0,04	0,05	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03	0,03	0,02	0,04	n.v.	0,01	
t10,t12	0,04	0,02	0,03	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	n.v.	0,02	
t9,t11	0,17	0,07	0,11	0,10	0,08	0,07	0,08	0,14	0,19	0,10	0,10	0,09	0,13	0,14	0,11	0,11	n.v.	0,10	
t8,t10	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	0,05	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	n.v.	0,01	
t7,t9	0,08	0,04	0,07	0,05	0,03	0,02	0,03	0,08	0,08	0,04	0,03	0,02	0,05	0,03	0,03	0,04	n.v.	0,01	
t11,c13	0,08	0,05	0,06	0,04	0,03	0,03	0,03	0,08	0,10	0,05	0,05	0,05	0,07	0,07	0,04	0,04	n.v.	0,05	
c11,t13	0,09	0,05	0,05	0,05	0,04	0,04	0,05	0,08	0,10	0,07	0,06	0,03	0,07	0,05	0,06	0,05	n.v.	0,03	
t10,c12	0,02	0,01	0,02	0,03	0,03	0,01	0,03	0,03	0,04	0,06	0,02	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	n.v.	0,07	
c9,t11	5,51	2,67	3,87	3,63	2,66	2,29	2,97	5,22	6,87	4,38	3,65	4,09	5,14	5,29	3,92	4,18	n.v.	2,79	
t8,c10	0,08	0,03	0,07	0,04	0,02	0,03	0,03	0,05	0,08	0,05	0,03	0,04	0,05	0,05	0,04	0,04	n.v.	0,02	
t7,c9	0,08	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05	0,17	0,42	0,53	0,28	0,23	0,23	0,28	0,30	0,17	0,14	n.v.	0,07	
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
t12,t14	0,02	0,03	0,01	0,01	0,03	0,02	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02		
t11,t13	0,03	0,02	0,03	0,02	0,04	0,05	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,02	0,03		
t10,t12	0,02	0,04	0,08	0,03	0,04	0,07	0,06	0,04	0,04	0,03	0,02	0,02	0,01	0,01	0,03	0,03	0,04		
t9,t11	0,13	0,20	0,24	0,16	0,13	0,18	0,16	0,10	0,14	0,11	0,15	0,17	0,24	0,19	0,23	0,27	0,12		
t8,t10	0,02	0,04	0,00	0,00	0,02	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,02	0,01	0,01		
t7,t9	0,01	0,02	0,02	0,02	0,03	0,04	0,05	0,01	0,04	0,02	0,02	0,03	0,04	0,02	0,03	0,02	0,02		
t11,c13	0,04	0,05	0,05	0,02	0,04	0,05	0,04	0,02	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02	0,04	0,04	0,03	0,05		
c11,t13	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,05	0,05	0,03	0,06	0,05	0,08	0,07	0,04	0,04	0,02	0,05	0,03		
t10,c12	0,05	0,11	0,15	0,06	0,06	0,07	0,11	0,07	0,10	0,06	0,09	0,06	0,07	0,06	0,05	0,05	0,06		
c9,t11	3,89	3,97	5,13	3,11	3,12	3,85	3,81	2,49	3,73	3,35	3,91	3,11	2,49	2,87	2,73	3,71	2,26		
t8,c10	0,03	0,03	0,03	0,02	0,04	0,03	0,02	0,02	0,03	0,01	0,05	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02		
t7,c9	0,11	0,10	0,11	0,07	0,08	0,18	0,19	0,16	0,23	0,22	0,24	0,19	0,08	0,08	0,07	0,10	0,06		

0,00 entspricht < 0,01; n.v. = nicht vorhanden

Tab. 6.47 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den CE, Proband Nr. 7

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
t12,t14	0,01	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00
t11,t13	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,02	0,01	0,01	0,01	0,03	0,02	0,02	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01
t10,t12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,03	0,03	0,03	0,06	0,06	0,05	0,01	0,03	0,00	0,01	0,02
t9,t11	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,04	0,03	0,06	0,06	0,06	0,08	0,05	0,06	0,04	0,04	0,01	0,02	0,02
t8,t10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
t7,t9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,03	0,04	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00
t11,c13	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,06	0,01	0,02	0,03	0,04	0,03	0,02	0,04	0,03
c11,t13	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,03	0,04	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02
t10,c12	0,03	0,03	0,03	0,01	0,04	0,03	0,01	0,03	0,06	0,06	0,05	0,05	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04
c9,t11	0,99	1,07	1,22	1,50	1,54	1,82	1,55	1,97	3,51	4,16	3,95	3,79	2,34	2,06	2,55	2,17	2,31	2,65
t8,c10	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,00	0,02	0,02	0,03	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
t7,c9	0,05	0,04	0,05	0,08	0,06	0,07	0,09	0,12	0,45	0,60	0,62	0,62	0,34	0,31	0,40	0,28	0,26	0,28
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35	
t12,t14	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
t11,t13	0,01	0,00	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02	0,01	0,00	0,01	0,05	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
t10,t12	0,02	0,02	0,02	0,03	0,05	0,01	0,03	0,01	0,01	0,03	0,04	0,01	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02
t9,t11	0,03	0,06	0,05	0,07	0,10	0,03	0,04	0,06	0,02	0,07	0,08	0,04	0,03	0,04	0,03	0,05	0,04	0,04
t8,t10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,01	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
t7,t9	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01
t11,c13	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
c11,t13	0,02	0,01	0,01	0,04	0,04	0,04	0,06	0,05	0,06	0,04	0,03	0,03	0,02	0,04	0,05	0,03	0,02	0,02
t10,c12	0,03	0,05	0,04	0,05	0,04	0,02	0,06	0,05	0,04	0,06	0,05	0,06	0,06	0,05	0,06	0,05	0,04	0,04
c9,t11	2,89	2,27	1,48	2,35	2,19	1,67	1,31	2,15	2,33	2,14	2,35	2,30	1,52	1,86	1,70	1,55	1,54	1,54
t8,c10	0,01	0,02	0,02	0,05	0,05	0,03	0,02	0,05	0,05	0,05	0,04	0,06	0,02	0,04	0,05	0,04	0,02	0,02
t7,c9	0,24	0,17	0,10	0,17	0,16	0,14	0,15	0,26	0,27	0,25	0,27	0,26	0,18	0,22	0,18	0,14	0,11	0,11

0,00 entspricht < 0,01

Tab. 6.48 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den TG, Proband Nr. 7

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
t12,t14	0,01	0,02	0,02	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01
t11,t13	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	0,08	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02
t10,t12	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,07	0,10	0,12	0,07	0,09	0,02	0,03	0,03
t9,t11	0,03	0,05	0,05	0,04	0,03	0,01	0,04	0,06	0,13	0,14	0,11	0,10	0,11	0,11	0,09	0,15	0,07	0,06
t8,t10	0,01	0,00	0,02	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02
t7,t9	0,02	0,04	0,03	0,03	0,03	0,01	0,04	0,06	0,06	0,06	0,18	0,16	0,14	0,17	0,14	0,12	0,08	0,05
t11,c13	0,04	0,06	0,09	0,01	0,03	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,10	0,09	0,03	0,10	0,08	0,06	0,04	0,04
c11,t13	0,02	0,04	0,06	0,04	0,04	0,02	0,05	0,08	0,16	0,18	0,10	0,06	0,14	0,10	0,05	0,05	0,05	0,08
t10,c12	0,04	0,06	0,09	0,02	0,06	0,04	0,05	0,07	0,31	0,34	0,19	0,07	0,11	0,18	0,06	0,09	0,04	0,09
c9,t11	1,77	3,62	3,60	2,89	2,02	2,04	2,67	3,98	6,95	7,71	6,34	6,21	6,69	6,03	5,76	6,14	4,14	4,44
t8,c10	0,10	0,13	0,06	0,04	0,13	0,15	0,08	0,12	0,52	0,58	0,28	0,29	0,32	0,26	0,26	0,24	0,15	0,20
t7,c9	0,14	0,30	0,22	0,19	0,19	0,12	0,36	0,54	1,78	1,97	1,72	1,87	1,83	1,64	1,42	0,70	0,43	0,39
	Tag 19 Tag 20 Tag 21 Tag 22 Tag 23 Tag 24 Tag 25 Tag 26 Tag 27 Tag 28 Tag 29 Tag 30 Tag 31 Tag 32 Tag 33 Tag 34 Tag 35																	
t12,t14	0,01	0,00	0,02	0,02	0,05	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,02	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01
t11,t13	0,01	0,01	0,02	0,01	0,04	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
t10,t12	0,02	0,01	0,02	0,03	0,05	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	0,02	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,03	0,03
t9,t11	0,06	0,04	0,05	0,09	0,09	0,04	0,04	0,03	0,05	0,07	0,02	0,05	0,07	0,05	0,03	0,04	0,02	0,02
t8,t10	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02
t7,t9	0,07	0,01	0,03	0,07	0,08	0,03	0,05	0,04	0,05	0,06	0,03	0,03	0,05	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02
t11,c13	0,05	0,03	0,07	0,05	0,04	0,03	0,02	0,04	0,04	0,06	0,03	0,02	0,04	0,06	0,04	0,03	0,02	0,02
c11,t13	0,08	0,02	0,04	0,05	0,07	0,04	0,06	0,05	0,07	0,10	0,07	0,05	0,06	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03
t10,c12	0,08	0,03	0,04	0,05	0,09	0,10	0,10	0,09	0,09	0,15	0,05	0,05	0,08	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03
c9,t11	3,26	1,59	2,29	4,04	3,19	2,39	2,43	2,90	3,42	4,38	2,94	2,89	2,39	2,66	2,05	2,13	1,49	1,49
t8,c10	0,16	0,04	0,08	0,15	0,17	0,12	0,11	0,14	0,15	0,23	0,13	0,13	0,11	0,14	0,09	0,08	0,06	0,06
t7,c9	0,29	0,14	0,17	0,51	0,67	0,50	0,47	0,46	0,60	0,70	0,60	0,59	0,44	0,42	0,24	0,25	0,12	0,12

0,00 entspricht < 0,01

Tab. 6.49 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den PL, Proband Nr. 7

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
t12,t14	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,03	0,01	0,03	0,03	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01	
t11,t13	0,02	0,02	0,03	0,04	0,03	0,02	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,02	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03	
t10,t12	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,05	0,04	0,02	0,04	0,01	0,01	0,00	0,00	0,02	
t9,t11	0,06	0,06	0,06	0,07	0,04	0,05	0,06	0,08	0,09	0,11	0,07	0,09	0,09	0,08	0,08	0,06	0,07	0,08	
t8,t10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	
t7,t9	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,04	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	
t11,c13	0,03	0,05	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03	0,04	0,02	0,02	0,03	0,05	0,04	0,05	
c11,t13	0,02	0,02	0,01	0,03	0,02	0,02	0,03	0,05	0,04	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,01	0,04	
t10,c12	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,05	0,06	0,04	0,06	0,05	0,06	0,04	0,05	0,06	0,05	0,04	0,04	
c9,t11	1,23	1,48	1,70	1,99	1,56	1,76	2,36	2,30	2,50	3,21	3,10	2,85	3,10	2,27	2,54	2,57	2,78	2,63	
t8,c10	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,04	0,02	0,01	0,02	0,01	0,00	0,04	0,04	
t7,c9	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,09	0,13	0,14	0,19	0,21	0,18	0,21	0,13	0,15	0,10	0,12	0,12	
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
t12,t14	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,01	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	
t11,t13	0,03	0,02	0,03	0,01	0,02	0,02	0,02	0,05	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,03	0,03	0,02	0,03	0,03	
t10,t12	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,03	0,04	0,03	0,01	0,04	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	
t9,t11	0,08	0,08	0,06	0,06	0,08	0,06	0,08	0,10	0,08	0,13	0,11	0,08	0,09	0,08	0,09	0,08	0,07	0,07	
t8,t10	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,03	0,04	0,02	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	
t7,t9	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	
t11,c13	0,04	0,03	0,03	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,03	0,03	0,02	0,04	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02	
c11,t13	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,06	0,05	0,02	0,04	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	
t10,c12	0,02	0,03	0,02	0,03	0,04	0,04	0,03	0,04	0,05	0,06	0,03	0,04	0,05	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	
c9,t11	2,43	2,17	1,84	1,70	1,84	1,94	1,91	2,38	2,27	3,26	2,83	1,92	2,05	1,66	1,91	1,89	1,77	1,77	
t8,c10	0,02	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	
t7,c9	0,06	0,07	0,05	0,05	0,06	0,07	0,08	0,11	0,11	0,17	0,14	0,10	0,10	0,07	0,05	0,04	0,04	0,03	

0,00 entspricht < 0,01

Tab. 6.50 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den CE, Proband Nr. 8

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18
t12,t14	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	n.v.	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
t11,t13	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,03	0,03	0,01	0,01	0,01	n.v.	0,02	0,03	0,00	0,01	0,00	0,00
t10,t12	0,02	0,03	0,03	0,09	0,02	0,06	0,06	0,05	0,06	0,02	0,05	n.v.	0,04	0,04	0,02	0,07	0,03	0,04
t9,t11	0,05	0,07	0,06	0,14	0,06	0,09	0,06	0,06	0,11	0,07	0,10	n.v.	0,07	0,07	0,05	0,14	0,11	0,07
t8,t10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	n.v.	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
t7,t9	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,04	0,03	0,01	0,02	0,04	0,03	n.v.	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01
t11,c13	0,02	0,05	0,03	0,03	0,04	0,10	0,04	0,05	0,03	0,03	0,02	n.v.	0,04	0,03	0,01	0,02	0,01	0,01
c11,t13	0,01	0,05	0,03	0,03	0,04	0,09	0,11	0,10	0,08	0,11	0,09	n.v.	0,11	0,07	0,04	0,08	0,05	0,03
t10,c12	0,05	0,13	0,07	0,18	0,10	0,13	0,09	0,15	0,17	0,19	0,15	n.v.	0,26	0,16	0,10	0,19	0,17	0,09
c9,t11	2,08	3,51	2,27	3,00	2,76	5,38	6,20	5,23	4,83	5,34	6,15	n.v.	7,42	5,53	3,46	6,12	3,86	2,55
t8,c10	0,06	0,08	0,07	0,05	0,02	0,10	0,14	0,05	0,07	0,08	0,05	n.v.	0,12	0,04	0,03	0,09	0,03	0,03
t7,c9	0,11	0,23	0,13	0,13	0,18	0,36	0,99	0,92	0,81	0,90	0,93	n.v.	1,23	0,90	0,60	0,87	0,46	0,26
	Tag 19 Tag 20 Tag 21 Tag 22 Tag 23 Tag 24 Tag 25 Tag 26 Tag 27 Tag 28 Tag 29 Tag 30 Tag 31 Tag 32 Tag 33 Tag 34 Tag 35																	
t12,t14	0,01	0,02	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	n.v.	0,00	0,00	0,01	0,01
t11,t13	0,02	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	n.v.	0,01	0,00	0,02	0,02
t10,t12	0,03	0,08	0,02	0,02	0,04	0,05	0,06	0,04	0,03	0,03	0,04	0,04	0,02	n.v.	0,03	0,03	0,02	0,02
t9,t11	0,11	0,17	0,09	0,06	0,09	0,10	0,09	0,27	0,10	0,09	0,09	0,09	0,08	n.v.	0,07	0,13	0,11	0,11
t8,t10	0,00	0,03	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	n.v.	0,00	0,00	0,01	0,01
t7,t9	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,03	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	n.v.	0,01	0,01	0,02	0,02
t11,c13	0,03	0,03	0,06	0,04	0,04	0,05	0,05	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	n.v.	0,02	0,04	0,02	0,02
c11,t13	0,02	0,04	0,01	0,03	0,06	0,08	0,05	0,02	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	n.v.	0,03	0,04	0,04	0,04
t10,c12	0,10	0,11	0,20	0,13	0,14	0,13	0,18	0,08	0,13	0,08	0,11	0,09	0,08	n.v.	0,12	0,15	0,05	0,05
c9,t11	4,19	4,50	4,46	3,35	3,22	4,07	4,97	3,51	3,94	3,62	2,85	3,50	3,93	n.v.	3,92	5,09	4,28	4,28
t8,c10	0,04	0,03	0,05	0,01	0,06	0,06	0,09	0,06	0,05	0,06	0,06	0,05	0,03	n.v.	0,01	0,03	0,04	0,04
t7,c9	0,26	0,28	0,17	0,18	0,26	0,44	0,57	0,47	0,47	0,41	0,34	0,39	0,45	n.v.	0,29	0,37	0,27	0,27

0,00 entspricht < 0,01; n.v. = nicht vorhanden

Tab. 6.51 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den TG, Proband Nr. 8

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
t12,t14	0,01	n.v.	0,00	0,00	0,03	0,07	0,02	0,08	n.v.	0,01	0,04	0,01	0,01	0,03	0,02	0,02	0,01	0,00	
t11,t13	0,02	n.v.	0,02	0,04	0,05	0,12	0,05	0,08	n.v.	0,05	0,07	0,05	0,05	0,07	0,02	0,01	0,02	0,01	
t10,t12	0,01	n.v.	0,01	0,08	0,04	0,12	0,10	0,13	n.v.	0,09	0,21	0,16	0,12	0,08	0,04	0,03	0,01	0,00	
t9,t11	0,07	n.v.	0,07	0,18	0,11	0,20	0,23	0,20	n.v.	0,12	0,11	0,21	0,19	0,18	0,10	0,08	0,09	0,06	
t8,t10	0,01	n.v.	0,01	0,01	0,02	0,03	0,03	0,06	n.v.	0,02	0,05	0,03	0,06	0,04	0,01	0,01	0,01	0,01	
t7,t9	0,06	n.v.	0,03	0,12	0,08	0,11	0,29	0,19	n.v.	0,15	0,16	0,22	0,12	0,09	0,11	0,04	0,02	0,05	
t11,c13	0,07	n.v.	0,05	0,10	0,11	0,09	0,06	0,11	n.v.	0,05	0,05	0,04	0,16	0,10	0,11	0,03	0,02	0,01	
c11,t13	0,11	n.v.	0,06	0,14	0,03	0,18	0,28	0,24	n.v.	0,30	0,24	0,22	0,18	0,14	0,16	0,09	0,03	0,04	
t10,c12	0,06	n.v.	0,04	0,11	0,06	0,10	0,28	0,14	n.v.	0,11	0,16	0,19	0,16	0,14	0,11	0,05	0,05	0,02	
c9,t11	2,96	n.v.	2,49	6,98	4,16	7,49	10,82	8,96	n.v.	13,48	10,55	11,55	10,43	6,81	9,95	3,81	4,56	3,60	
t8,c10	0,14	n.v.	0,07	0,28	0,19	0,26	0,46	0,29	n.v.	0,46	0,33	0,32	0,37	0,20	0,22	0,08	0,07	0,14	
t7,c9	0,28	n.v.	0,21	0,53	0,31	0,74	1,81	2,12	n.v.	3,30	2,62	2,91	2,56	1,66	2,14	0,49	0,49	0,33	
	Tag 19	Tag 20	Tag 21	Tag 22	Tag 23	Tag 24	Tag 25	Tag 26	Tag 27	Tag 28	Tag 29	Tag 30	Tag 31	Tag 32	Tag 33	Tag 34	Tag 35		
t12,t14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	
t11,t13	0,02	0,02	0,06	0,02	0,03	0,04	0,04	0,01	0,02	0,01	0,03	0,03	0,02	0,05	0,01	0,02	0,00	0,00	
t10,t12	0,01	0,02	0,04	0,03	0,06	0,03	0,04	0,01	0,01	0,02	0,01	0,03	0,06	0,02	0,01	0,03	0,01	0,01	
t9,t11	0,06	0,09	0,12	0,08	0,11	0,13	0,11	0,12	0,09	0,11	0,10	0,11	0,15	0,10	0,11	0,08	0,15	0,15	
t8,t10	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,04	0,01	0,03	0,03	0,02	0,01	0,01	0,01	
t7,t9	0,02	0,06	0,05	0,07	0,07	0,10	0,07	0,04	0,05	0,08	0,05	0,08	0,10	0,09	0,10	0,08	0,06	0,06	
t11,c13	0,06	0,05	0,11	0,08	0,09	0,09	0,10	0,10	0,07	0,03	0,05	0,06	0,06	0,10	0,10	0,10	0,07	0,07	
c11,t13	0,08	0,10	0,11	0,07	0,13	0,20	0,17	0,15	0,19	0,11	0,11	0,14	0,14	0,11	0,12	0,09	0,05	0,05	
t10,c12	0,04	0,03	0,06	0,04	0,04	0,17	0,14	0,14	0,07	0,07	0,06	0,05	0,10	0,09	0,09	0,09	0,10	0,10	
c9,t11	4,21	5,74	5,66	4,67	6,03	8,20	8,33	7,21	7,42	8,06	6,20	6,97	6,58	5,86	7,75	5,35	5,74	5,74	
t8,c10	0,18	0,24	0,24	0,21	0,23	0,42	0,36	0,25	0,28	0,17	0,16	0,24	0,31	0,19	0,30	0,19	0,25	0,25	
t7,c9	0,38	0,59	0,56	0,66	0,95	1,60	1,53	1,25	1,27	1,49	1,20	1,17	0,95	0,56	0,65	0,44	0,54	0,54	

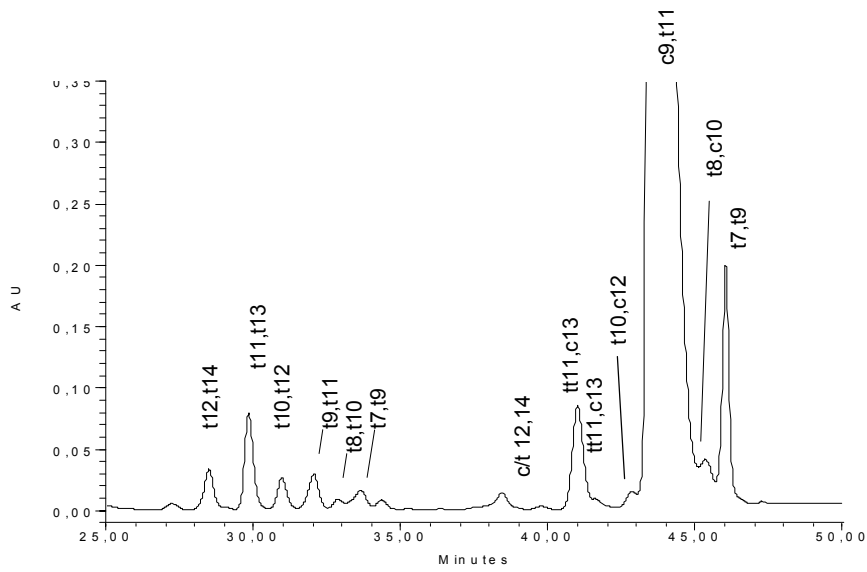
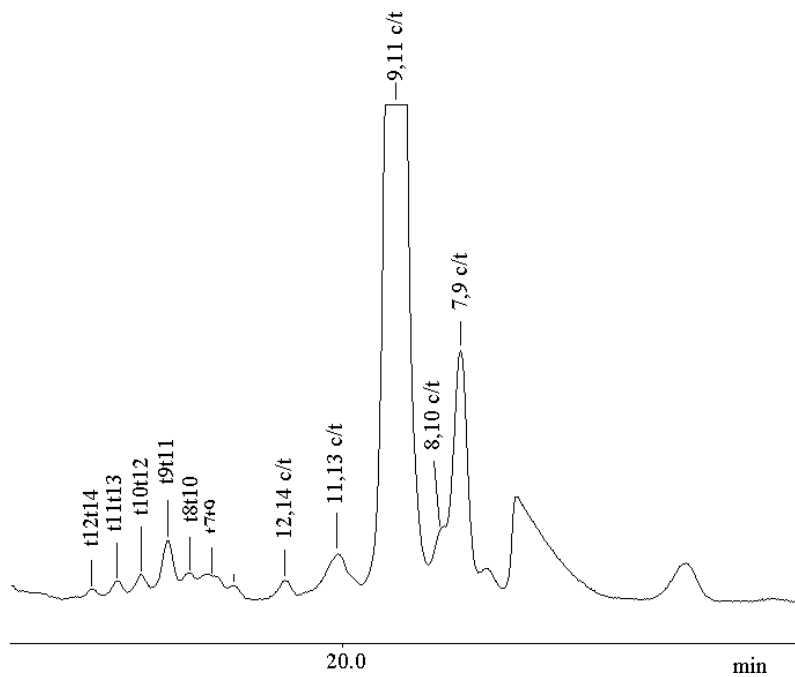
0,00 entspricht < 0,01; n.v. = nicht vorhanden

Tab. 6.52 Absolute CLA-Gehalte (in µg/mL Plasma) in den PL-, Proband Nr. 8

CLA-Isomer	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Tag 17	Tag 18	
t12,t14	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02
t11,t13	0,02	0,03	0,03	0,03	0,05	0,03	0,03	0,04	0,02	0,04	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02
t10,t12	0,02	0,03	0,01	0,04	0,01	0,02	0,01	0,02	0,03	0,03	0,03	0,05	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
t9,t11	0,10	0,09	0,11	0,09	0,09	0,10	0,08	0,12	0,16	0,16	0,18	0,22	0,18	0,12	0,15	0,12	0,15	0,15	0,13
t8,t10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
t7,t9	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,03	0,04	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,05	0,02	0,02	0,02	0,01
t11,c13	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05	0,03	0,05	0,05	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,01	0,02	0,03	0,03
c11,t13	0,02	0,01	0,05	0,03	0,04	0,06	0,05	0,07	0,07	0,07	0,03	0,04	0,03	0,02	0,03	0,05	0,07	0,06	0,06
t10,c12	0,04	0,06	0,06	0,08	0,06	0,05	0,05	0,06	0,07	0,07	0,08	0,11	0,08	0,06	0,06	0,04	0,03	0,03	0,03
c9,t11	3,03	2,78	2,99	2,56	3,15	2,65	2,97	4,50	5,43	5,73	6,18	7,20	7,22	5,88	5,76	3,78	4,04	3,35	3,35
t8,c10	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03	0,04	0,04	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,07	0,01	0,01	0,01	0,01
t7,c9	0,03	0,03	0,09	0,05	0,10	0,07	0,15	0,38	0,53	0,65	0,69	0,74	0,80	0,59	0,63	0,24	0,17	0,13	0,13
	Tag 19 Tag 20 Tag 21 Tag 22 Tag 23 Tag 24 Tag 25 Tag 26 Tag 27 Tag 28 Tag 29 Tag 30 Tag 31 Tag 32 Tag 33 Tag 34 Tag 35																		
t12,t14	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,03	0,01	0,03	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02
t11,t13	0,04	0,03	0,06	0,05	0,06	0,06	0,05	0,02	0,04	0,06	0,04	0,04	0,04	0,06	0,05	0,03	0,04	0,04	0,04
t10,t12	0,01	0,02	0,04	0,03	0,04	0,05	0,03	0,02	0,06	0,03	0,04	0,04	0,02	0,02	0,04	0,02	0,03	0,03	0,03
t9,t11	0,10	0,15	0,23	0,23	0,22	0,29	0,31	0,31	0,36	0,38	0,37	0,27	0,21	0,29	0,26	0,25	0,17	0,17	0,17
t8,t10	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,02	0,02
t7,t9	0,02	0,02	0,03	0,04	0,04	0,06	0,06	0,04	0,05	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04
t11,c13	0,03	0,02	0,07	0,10	0,09	0,09	0,07	0,05	0,03	0,02	0,04	0,06	0,05	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06
c11,t13	0,06	0,07	0,08	0,08	0,06	0,08	0,09	0,07	0,05	0,07	0,07	0,08	0,05	0,08	0,06	0,09	0,09	0,06	0,06
t10,c12	0,03	0,04	0,08	0,05	0,07	0,10	0,07	0,04	0,05	0,04	0,06	0,09	0,06	0,06	0,08	0,05	0,06	0,06	0,06
c9,t11	2,60	3,09	4,18	5,85	4,52	6,07	6,63	6,34	5,32	6,11	5,31	5,38	4,49	4,77	4,47	4,53	4,92	4,92	4,92
t8,c10	0,02	0,02	0,03	0,05	0,04	0,05	0,06	0,02	0,06	0,08	0,07	0,07	0,06	0,06	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05
t7,c9	0,09	0,12	0,13	0,29	0,27	0,39	0,43	0,36	0,37	0,36	0,31	0,30	0,26	0,24	0,13	0,14	0,14	0,16	0,16

0,00 entspricht < 0,01

6.17 Chromatogramme

Abb. 6.1 Ag^+ -HPLC-Chromatogramm der CLA in einem EmmentalerkäseAbb. 6.2 Ag^+ -HPLC-Chromatogramm der CLA im M.I.d. eines silagegefütterten Ochsen

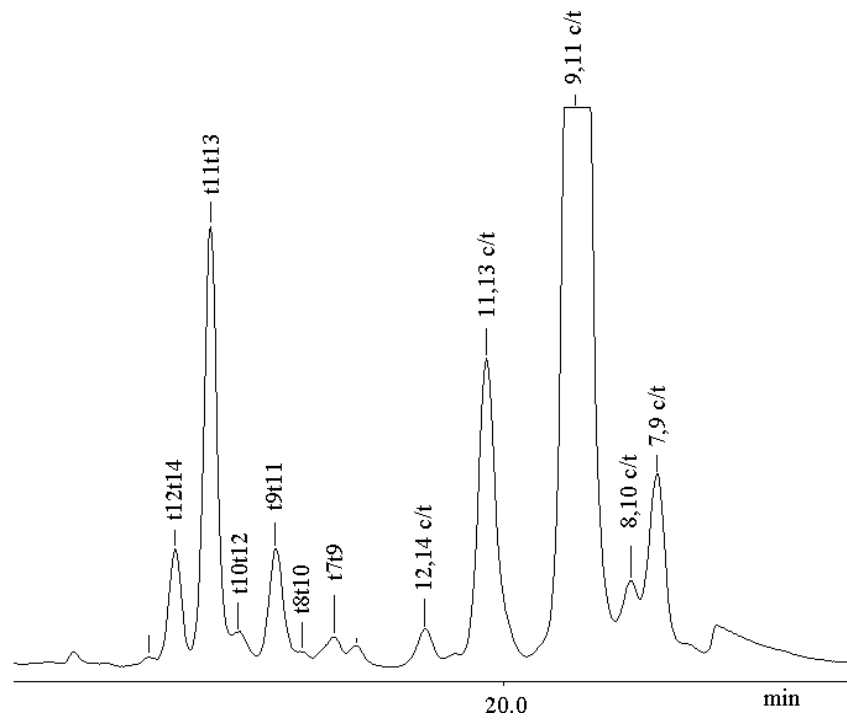
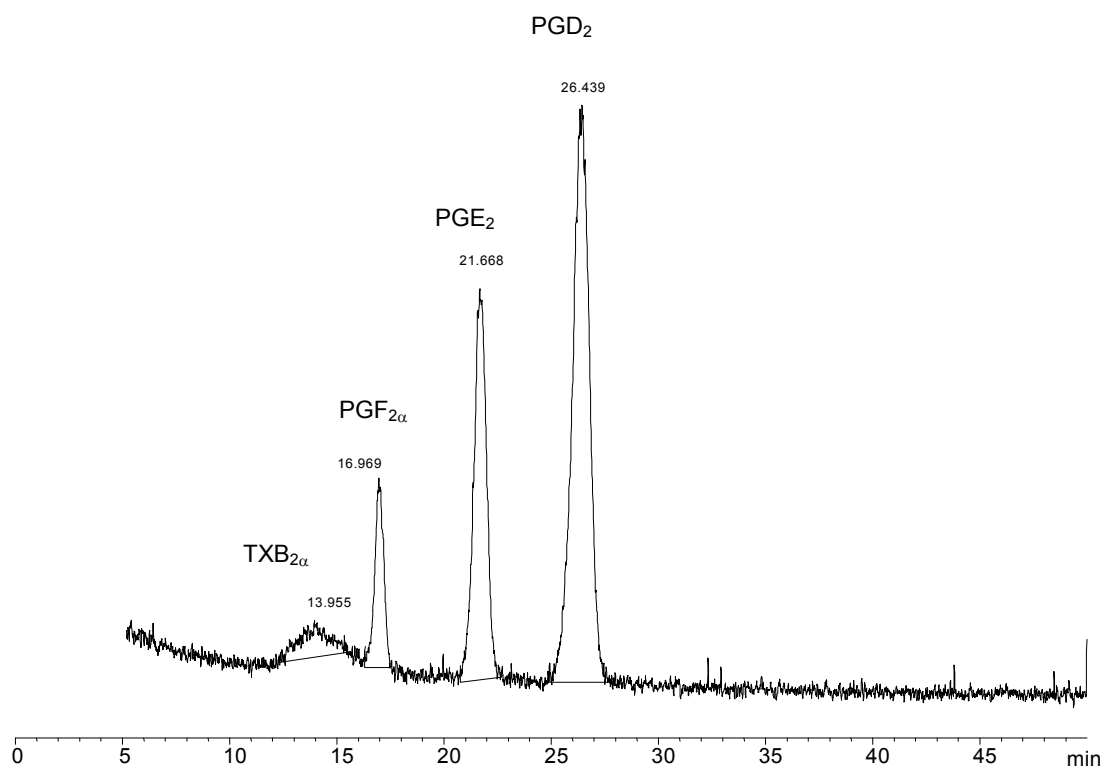
Abb. 6.3 Ag⁺HPLC-Chromatogramm der CLA im M.I.d. eines weidegefütterten Ochsens

Abb. 6.4 HPLC-ESI-MS-Chromatogramm des Eicosanoid-Mischstandards

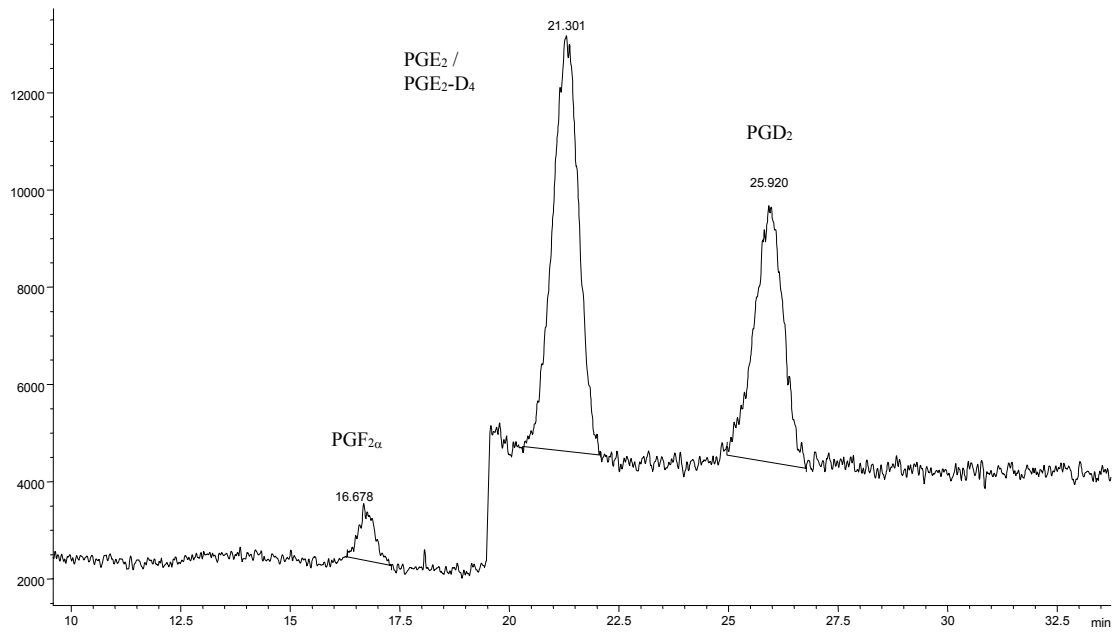


Abb. 6.5 HPLC-ESI-MS-Chromatogramm der Tumorstandardlösung der PG

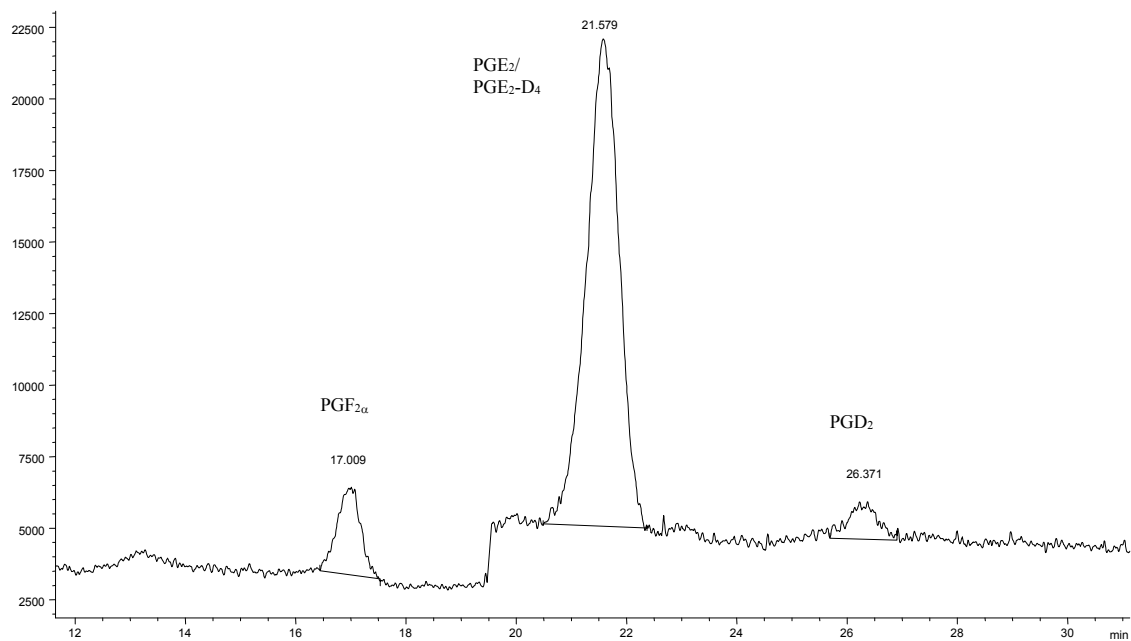
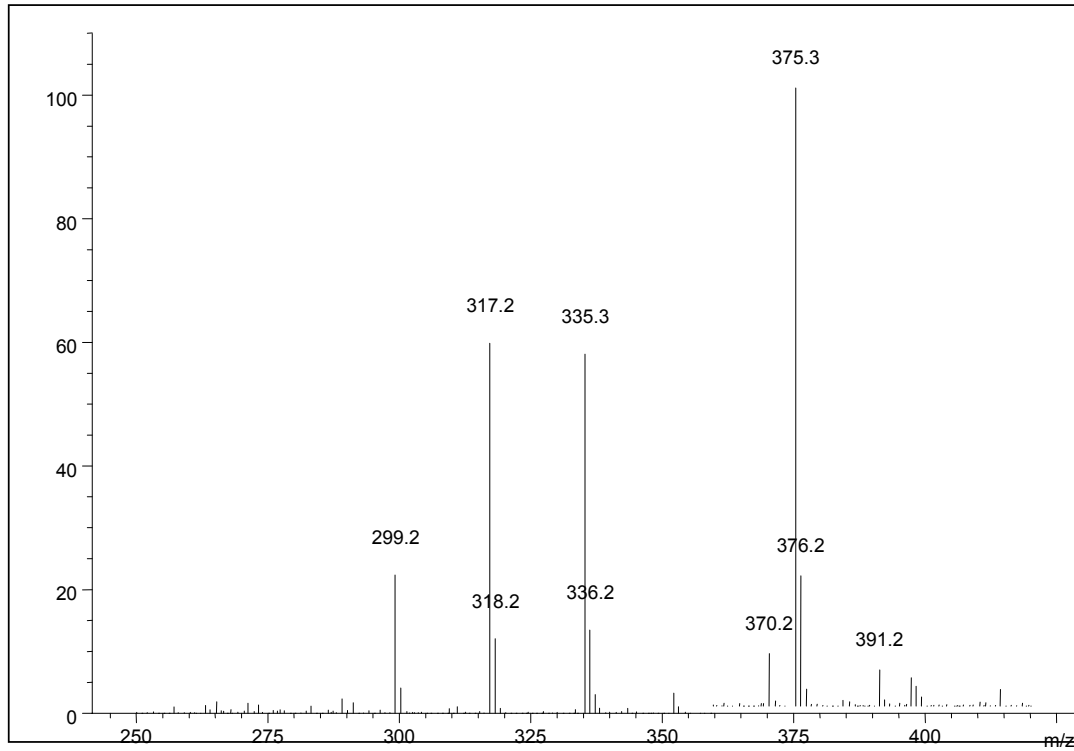
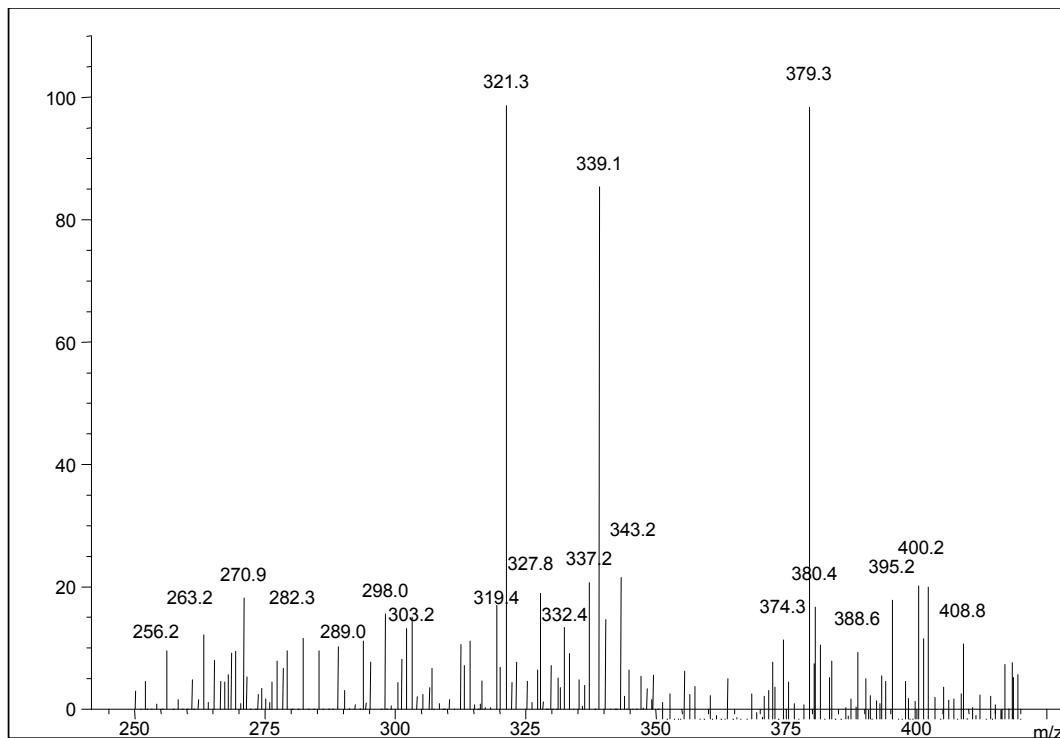
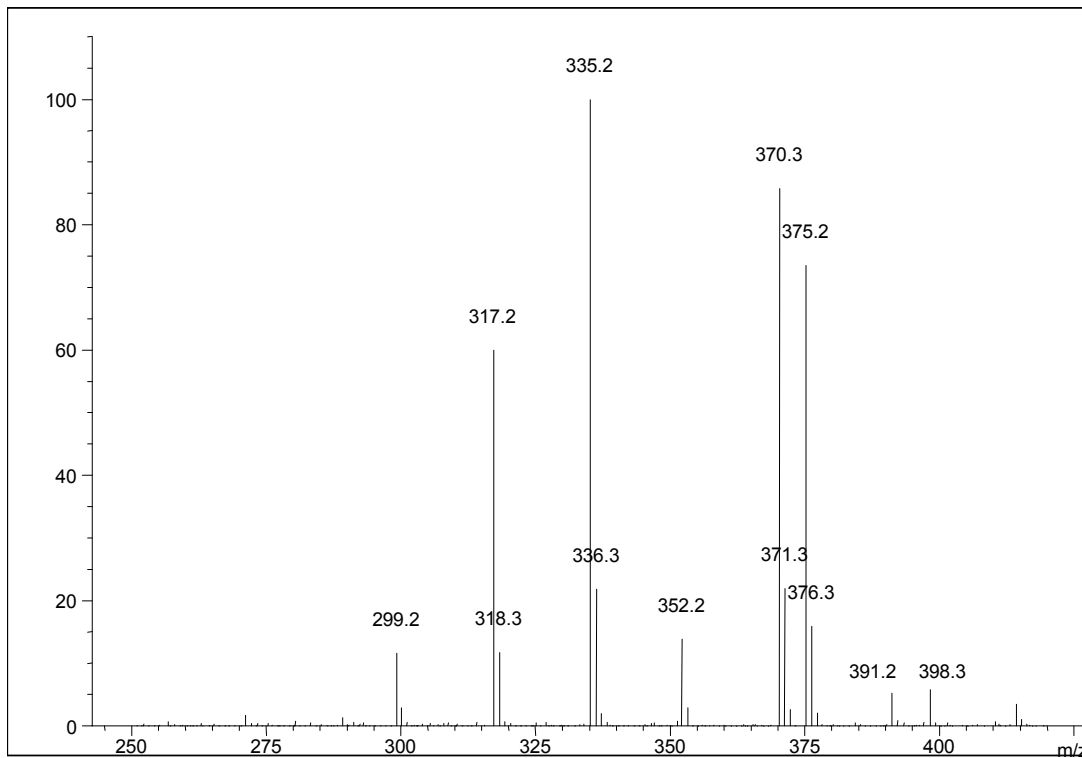
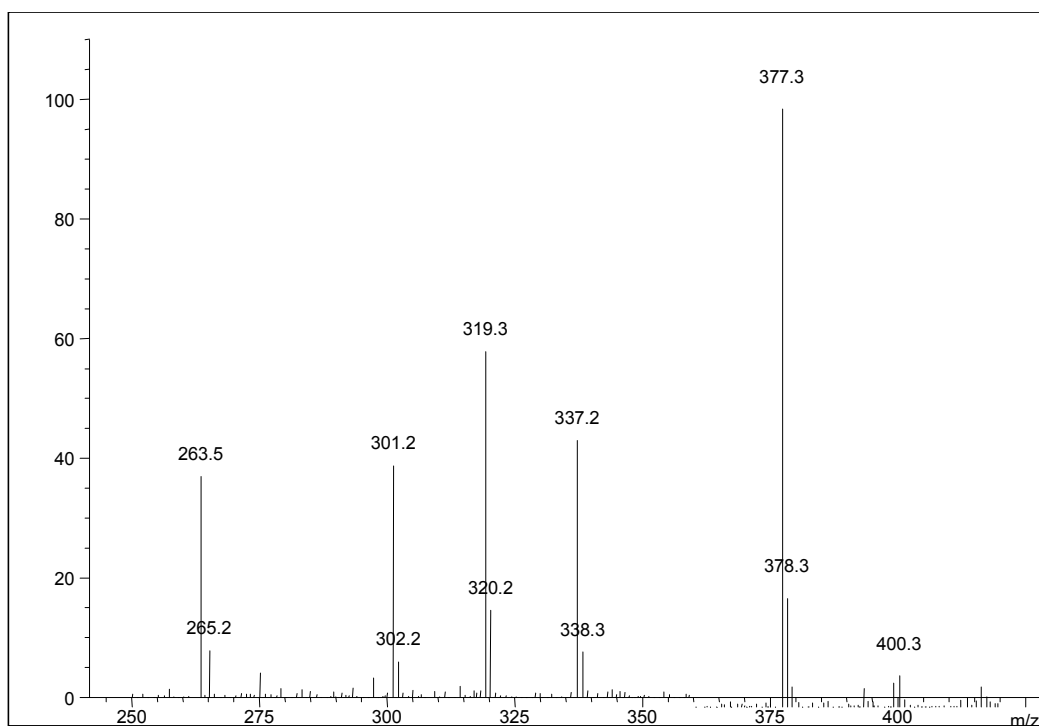


Abb. 6.6 HPLC-ESI-MS-Chromatogramm (SIM) der PG in einem Mammatumor

6.18 Massenspektren

Abb. 6.7 Massenspektrum von PGE₂Abb. 6.8 Massenspektrum von PGE₂-d₄

Abb. 6.9 Massenspektrum von PGD₂Abb. 6.10 Massenspektrum von PGF_{2α}

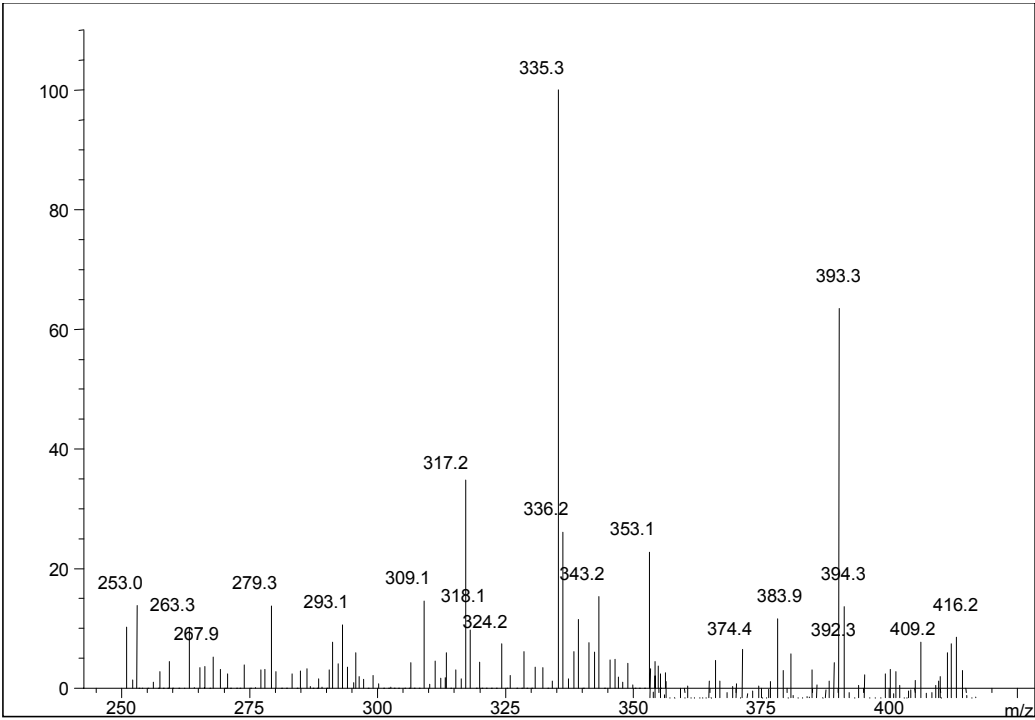


Abb. 6.11 Massenspektrum von TXB₂

6.19 Chemikalien und Geräte

Tab. 6.53 Verwendete Chemikalien

Chemikalie	Gefahrstoff- symbol	R-Sätze	S-Sätze	MAK- Werte [mg/m ³]
Acetonitril	T, F	11-23/24/25	16-27-45	40
Amberlite XAD-2				
AMP	Xi	36/38		
Ameisensäure	C	35	23.2-26-45	10
Amprep 100				
BHT	Xn	22-36	24	
Chloroform	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37	50
Dichlormethan	Xn	47-20/22-38-40-48	53-36/37	50
Diethylether	F	12-19	9-16-29-33	1200
Eisesssig	C	10-35	23.2-26-45	10
Hydrazinhydrat	T	45-E23/24/25-34-43	53-26-36/37/39-45	
Kaliummethylat	F,C	11-14-34	8-16-26-43.6-45	
Methanol	F, T	11-23/25	7-16-24-45	200
Molybdätophosphorsäure	Xi	36/38		
Natriumchlorid				
Natriumsulfat, wasserfrei				
n-Hexan	F, Xn	11-48/20	9-16-24/25-9	50
Petrolether	F	11	16-29-33	
Schwefelsäure, 96%	C	35	2-26-30	
Seesand				
Stickstoff, flüssig				
Trifluoressigsäure	C	20-35	9-26-27-28-45	
Krebs-Ringer-Lösung:				
D-Glucose				
Dinatriumhydrogenphosphat- Dihydrat				
Kaliumchlorid				
Magnesiumchlorid- Hexahydrat				
Natriumbicarbonat				
Natriumchlorid				
Natriumdihydrogenphosphat- Dihydrat				

Hexan und Methanol für die HPLC wurden in frisch destillierter Qualität verwendet, Acetonitril in HPLC reiner Qualität. Alle anderen Chemikalien waren analysenrein. Die verwendeten Standardsubstanzen gehören nach der Gefahrstoffverordnung nicht zu den Gefahrstoffen und wurden daher nicht in der Tabelle aufgeführt. Die Standardsubstanzen werden unter 6.1 beschrieben.

Geräte

HPLC-UV:	Merck-Hitachi 655 A-12LC, L-5000 Controller; Detektor: Waters 996 PDA und Merck-Hitachi, L4200 UV/VIS
HPLC-MS:	HP Serie 1100; Pumpe: Bin Pump G1312A; Entgaser: G1322A; Autosampler: ALS G1313A; Säulenofen: G1316A; UV-Detektor: G1314A; MS-Detektor: HP Serie 1100 MSI: G1946A
Analytische Säulen:	LiChrospher HPLC-Säule: 100 RP-18, 5 µm, 4,6 x 20 cm. Hersteller: CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe. Multospher HPLC-Säule: 100 RP-18, 5 µm, 4,6 x 20 cm. Hersteller: CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe. Nucleosil HPLC-Säule: 120 RP-18, 5 µm, 4,6 x 20 cm. Hersteller: CS-Chromatographie Service GmbH, Langerwehe.
Vorsäule:	Selbstgepackt. Füllmaterial: LiChroprep. Teilchendurchmesser: 50-60 µm. Füllmaterial von Merck
XAD-2 Säule:	Glasrohr (ID= 1,5 cm) mit Fritte: 10 cm mit Amberlite XAD-2
SPE-Säulen:	Macherey & Nagel, Aminopropylphase CHROMABOND, 500mg, 2,8 mL
TLC-Platten:	Merck, Kieselgel 60 F ₂₅₄ , 10 x 10 cm
Analysenwaage:	Sartorius
Grobwaage:	Sartorius
Rotationsverdampfer	Heidolph VV 2000 und WB 2000, Brandt Vakuum Controller 24
Ultra-Turrax:	Janke & Kunkel T 25, IKA Labortechnik
Ultraschallbad:	Bransonic 12 und Bandelin Sonorex RK510S
Gefriertrocknung:	Christ beta 1-16
Trockenschrank:	Heraeus BI 3645 E, Hannau
Zentrifuge:	Heraeus Christ Laborfuge, Osterode/Harz

7 Literatur

- Abian, J., Gelpi, E.: Direct analysis of the major human seminal Leukotriens by thermospray high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 774 (1997) 147-153.
- Adlof, R.O., Copes, L.C., Emken, E.A.: Analysis of the monoenoic fatty acid distribution in hydrogenated vegetable oils by silver-ion high performance liquid chromatography, *J. Am. Oil Chem Soc.* 72 (1995) 571-574.
- Adlof, R.O.: Analysis of fatty acid mono- and diacylglycerol positional isomers by silver ion high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 741 (1996) 135-138.
- AOCS, Method Ce 2-66 Official and tentative methods of the American Oil Chemists Society, AOCS, Champaign, Illinois (1990).
- Aro, A., Kosmeijer-Schuil, T., Van de Bovenkamp, P., Hulshof, P., Zock, P., Katan, M.B.: Analysis of C18:1 cis and trans fatty acid isomers by the combination of gas-liquid chromatography of 4,4-dimethyloxazoline derivatives and methyl esters, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75 (1998) 977-985.
- Aro, A., Männistö, S., Salmine, I., Ovaskainen, M.-L., Kataja, V., Uusitupa, M.: Inverse Association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women, *Nutr. Cancer* 38 (2000) 151-157.
- Azain, M., Hausman, D., Sisk, M., Flatt, W., Jewell, D.: Dietary conjugated linoleic acid reduces rat adipose tissue cell size rather than cell number, *J. Nutr.* 130 (2000) 1548-1554.
- Banni, S., Angioni, E., Casu, V., Melis, M.P., Carta, G., Corongiu, F.P., Thompson, H., Ip, C.: Decrease in linoleic acid metabolites as a potential mechanism in cancer risk reduction by conjugated linoleic acid, *Carcinogenesis* 20 (1999a) 1019-1024.
- Banni, S., Angioni, E., Casu, V., Melis, M.P., Scrugli, S., Carta, G., Corongiu, F.P., Ip, C.: An increase in vitamin A status by the feeding of conjugated linoleic acid, *Nutr. Cancer* 33 (1999b) 53-57.
- Bastert, G. (Hrsg.), *Klinik der Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Band 12: Spezielle gynäkologische Onkologie II*, 3.Auflage, Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore (1996).
- Bauknecht, T., Siegel, A., Meerpohl, H.G., Zahradnik, H.P.: Formation of prostaglandins by ovarian carcinomas, *Prostaglandins* 29 (1985) 665-672.
- Belury, M.A.: Conjugated dienoic linoleate: A polyunsaturated fatty acid with unique chemoprotective properties, *Nutr. Rev.* 53 (1995) 83-89.
- Belury, M.A., Lo, S., Locniskar, M., Fischer, S.M.: Dietary n-6 fatty acid modulation of phorbol ester associated events in mouse skin, *Nutr. Cancer* 19 (1993) 307-319.

Belury, M.A., Kempa-Steczko, A: Conjugated linoleic acid modulates hepatic lipid composition in mice, *Lipids* 32 (1997) 199-204.

Bennett, A., Civier, A., Hensby, C.N., Melhuish, P.B., Stamford, I.F.: Measurement of arachidonate and its metabolites extracted from human normal and malignant gastrointestinal tissues, *Gut* 28 (1987) 315-318.

Berdeaux, O., Voinot, L., Angioni, E. Juanéda, P., Sébédio, J.-L. : A simple method of preparation of methyl trans-10, cis-12- and cis-9-trans-11.octadecadienoates from methyl linoleate. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75 (1998) 1749-1755.

Bergeron, M., Havel, R.: Influence of diets rich in saturated and omega-6 polyunsaturated fatty acids on the postprandial response of apolipoproteins B-48, B-100, E, and lipids in triglyceride-rich lipoproteins. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 15 (1995) 2111-2121.

Berven, G., Bye, A., Hals, O., Blankson, H., Fagertun, H., Thom, E., Wadstein, J., Gudmundsen, O.: Safety of conjugated linoleic acid (CLA) in overweight or obese human volunteers. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102 (2000) 455-462.

Breslow, J.L.: Cardiovascular disease burdon increase, NIH funding decreases, *Nat. Med.* 3 (1997) 600-601.

Brodie, A.E., Manning, V.A., Ferguson, K.R., Jewell, D.E., Hu, C.Y.: Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and postconfluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only in preconfluent cells. *J.Nutr.* 129 (1999) 602-606.

Brown, D.W., Moore, W.E.C.: Distribution of *Butyrivibrio fibrisolvens* in nature, *J. Dairy Sci.* 43 (1960) 1570-1574.

Bulgarella, J.A., Patton, D., Bull, A.W.: Modulation of prostaglandin H synthase activity by conjugated linoleic acid (CLA) and specific CLA isomers, *Lipids* 36 (2001) 407-412.

Castelli, W.P.: The triglyceride issue: A view from Framingham. *Am. Heart J.* 112 (1986) 432-437.

Chardigny, J.M., Arnal, M.A., Juaneda, P., Genty, M., Gregoire, S, Sébédio, J.L.: Effect of cis-9,trans-11 and trans-10,cis-12 CLA isomers in two strains of mice, Vortrag, 17th International Congress of Nutrition, Wien, August 2001.

Chew, B.P., Wong, T.S., Shultz, T.D., Magnuson, N.S.: Effects of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and beta-carotene in modulating lymphocyte and Macrophage function, *Anticancer Res.* 17 (1997) 1099-1106.

Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L., Pariza, M.W.: Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.* 5 (1992) 185-197.

Christie, W.W.: A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters, *J. Lipid Res.* 23 (1982) 1072-1075.

Christie, W.W.: A stable silver-loaded column for the separation of lipids by high performance liquid chromatography, *J. High Resol. Chromatogr.* 10 (1987) 148-150.

Christie, W.W.: *Gas Chromatography and Lipids*, Ed. 1, The Oily Press, Glasgow (1989).

Christie, W.W., Breckenridge, G.H.: Separation of cis and trans isomers of unsaturated fatty acids by high performance liquid chromatography in the silver ion mode, *J. Chromatogr.* 469 (1989) 261-269.

Ciucanu, I., Pop, D., Timocanu, V.: Derivatization of prostaglandins and related compounds to (methoxime) alkyl ester ether derivatives for gas chromatographic analysis, *J. Chromatogr.* 436 (1988) 219-228.

Cook, M.E., Miller, C.C., Park, Y., Pariza, M.W.: Immune modulation by altered nutrient metabolism control of immune-induced growth depression. *Poultry Sci.* 72 (1993) 1301-1305.

Cordis, G.A., Das, D.K.: High-performance liquid chromatographic detection of myocardial prostaglandins, *J. Chromatogr.* 536 (1991) 309-317.

Daniel, V.C., Minton, T.A., Brown, N.J., Nadeau, J.H., Morrow, J.D.: Simplified assay for the quantification of 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin F_{1α} by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. B* 653 (1994) 117-122.

DeLany, J.P., Blohm, F., Truett, A.A., Scimeca, J.A., West, D.B.: Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake, *Am. J. Physiol.-Reg. I.* 276 (1999) R1172-R1179.

Dhiman, T.R., Anand, G.R., Satter, L.D., Pariza, M.W.: Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets, *J. Dairy Sci.* 82 (1999) 2146-2156.

Dobson, G.: Identification of conjugated fatty acids by gas chromatography-mass spectrometry of 4-methyl-1,2,4-triazoline-3,5-dione adducts, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75 (1998) 137-142.

Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Schaefer, A.L., Kramer, J.K.G.: The effects of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs, *Can. J. Anim. Sci.* 77 (1997) 723-725.

Eisenbrand, G., Schreier, P. (Hrsg.): *Römpp Lexikon - Lebensmittelchemie*, Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1995) 247.

Elmadfa, I., Leitzmann, C.: *Ernährung des Menschen*, 3. Auflage, Ulmer Verlag, Stuttgart (1998) 54.

Emken, E.A., Rohwedder, W.K., Adlof, R.O., DeJariais, W.J., Gulley, R.M.: Absorption and distribution of deuterium-labeled trans- and cis-11-octadecenoic acid in human plasma and lipoprotein lipids, *Lipids* 21 (1986) 589-595.

Fay, L., Richli, U.: Location of double bonds in polyunsaturated fatty acids by gas chromatography-mass spectrometry after 4,4-dimethyloxazoline derivatization, *J. Chromatogr.* 541 (1991) 89-98.

Ferretti, A., Flanagan, V.P.: Isolation and measurement of urinary 8-iso-prostaglandin $F_{2\alpha}$ by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. B* 694 (1997) 271-276.

FIGO Cancer Committee: Staging announcement, *Gynec. Oncol.* 25 (1986) 383-385.

Firestone, D., Sheppard, A.: Determination of trans fatty acids. In: *Advances in lipid methodology-one*, Ed: Christie, W.W., 1. Auflage, 1992, The Oily Press, Dundee, 273-322.

Firestone, D., Mossoba, M.M.: Newer methods for fat analysis, in: *New techniques and applications in lipid analysis*, eds.: R.E. McDonald, M.M. Mossoba, 1. Auflage, AOCS Press, Champaign, Bd. 12, 2-32 (1997)

Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S.: A simple Method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue, *J. Biol. Chem.* 226 (1957) 497-505.

Forth, W., Henschler, D., Rummel, W. (Hrsg.): *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 5. Auflage, BI Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich, 196 (1997).

French, P., Stanton, C., Lawless, F., O'Riordan, E.G., Monahan, F.J., Caffrey, P.J., Moloney, A.P.: Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets, *J. Anim. Sci.* 78 (2000) 2849-2855.

Fritsche, J., Steinhart, H.: Contents of trans fatty acids (TFA) in German foods and estimation of daily intake, *Fett/Lipid* 99 (1997) 314-318.

Fritsche, J., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Roach, J.A.G., Sehat, N., Ku, Y., Steinhart, H.: Conjugated linoleic acid (CLA) isomers in human adipose tissue. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* 205 (1997) 415-418.

Fritsche, J., Steinhart, H.: Analysis, occurrence, and physiological properties of trans fatty acids (TFA) with particular emphasis on conjugated linoleic acid isomers (CLA), *Fett/Lipid* 100 (1998a) 190-210.

Fritsche, J., Steinhart, H.: Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake, *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A* 206 (1998b) 77-82.

- Fritsche, J., Steinhart, H., Kardalinos, V., Klose, G.: Contents of trans-fatty acids in human substernal adipose tissue and plasma lipids: Relation to angiographically documented coronary heart disease. *Eur. J. Med. Res.* 3 (1998) 401-406.
- Fritsche, J., Fritsche, S., Solomon, M.B., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Morehouse, K., Ku, Y.: Quantitative determination of conjugated linoleic acid isomers in beef fat, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102 (2000) 667-672.
- Gavino, V.C., Gavino, G., Leblanc, M.J., Tuchweber, B.: An isomeric mixture of conjugated linoleic acids but not pure cis-9,trans-11-octadecadienoic acid affects body weight gain and plasma lipids in hamsters, *J. Nutr.* 130 (2000) 27-29.
- Gläser, K.R., Scheeder, M.R.L., Wenk, C.: Dietary C18:1 trans fatty acids increase conjugated linoleic acid in adipose tissue of pigs, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 102 (2000) 684-686.
- Gnädig, S., Chamba, J.F., Perreard, E., Chappazze, S., Rickert, R., Steinhart, H., Berdeaux, O.: Influence of cheese processing on conjugated linoleic acid (CLA) content and CLA-isomer composition, Poster, International Congress of Nutrition, Wien, August 2001.
- Goswami, S., Mai, J., Bruckner, G., Kinsella, J.E.: Extraction and purification of Prostaglandins and Thromboxane from biological samples for gas chromatographic analysis, *Prostaglandins* 22 (1981) 693-702.
- Griinari, J.M., Chouinard, P.Y., Bauman, D.E.: Trans fatty acid hypothesis of milk fat depression revised. *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.* (1997) 208-216.
- Griinari, J.M., Bauman, D.E.: Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants, in: *Advances in Conjugated linoleic acid research*, Vol I, eds: Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Pariza, M.W., Nelson, G.J., AOCS Press, Champaign, Illinois, 1999.
- Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V.V., Bauman, D.E.: Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase, *J. Nutr.* 130 (2000) 2285-2291.
- Ha, Y.L., Grimm, N.K., Pariza, M.W.: Anticarcinogen from fried ground beef: Heat-altered derivatives of linoleic acid, *Carcinogenesis* 8 (1987) 1881-1887.
- Hayek, M.G., Han, S.N., Wu, D., Watkins, B.A., Meydani, M., Dorsey, J.L., Smith, D.E., Meydani, S.N.: Dietary conjugated linoleic acid influences immune response of young and old C57BL/6NCrIBR mice. *J. Nutr.* 129 (1999) 32-38.
- Herbel, B.K., McGuire, M.K., McGuire, M.A., Shultz, T.D.: Safflower oil consumption does not increase plasma conjugated linoleic acid concentrations in humans, *Am. J. Clin. Nutr.* 67 (1998) 332-337.

Hoi Do, U., Lo, S.-L., Iles, J., Rosenberger T., Tam, P., Hong, Y., Ahern, D.: Tritium isotope effect in high-performance liquid chromatography of eicosanoids, Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 50 (1994) 335-338.

Houseknecht, K.L., Vanden Heuvel, J.P., Moya-Camarena, S.Y., Portocarrero, C.P., Peck, L.W., Nickel, K.P., Belury, M.A.: Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. Biochem. Biophys. Res. Commun. 244 (1998) 678-682.

Hubbard, W.C., Litterst C.L., Liu, M.C., Bleecker, E.R., Eggleston, J.C., McLemore T.L., Boyd, M.R.: Profiling of prostaglandin biosynthesis in biopsy fragments of human lung carcinomas and normal human lung by capillary gas chromatography-negative ion chemical ionization mass spectrometry, Prostaglandins 52 (1996) 889-906.

Ip, C., Chin, S.F., Scimeca, J.A., Pariza, M.W.: Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid, Cancer Res. 51 (1991) 6118-6124.

Ip, C., Singh, M., Thompson, H.J., Scimeca, J.A.: Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat, Cancer Res. 54 (1994) 1212-1215.

Ip, C., Scimeca, A., Thompson, H.: Effect of timing and duration of dietary conjugated linoleic acid on mammary cancer prevention. Nutr. Cancer 24 (1995) 241-247.

Ip, C., Briggs, S.P., Haegele, A.D., Thompson, H.J., Storkson, J., Scimeca, J.A.: The efficacy of conjugated linoleic acid in mammary cancer prevention is independent of the level and type of fat in the diet, Carcinogenesis 17 (1996) 1045-1050.

Ip, C., Banni, S., Angioni, E., Carta, G., McGinley, J., Thompson, H.J., Barbano, D., Bauman, D.: Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats, J. Nutr. 129 (1999) 2135-2142.

Jahreis, G., Fritsche, J., Steinhart, H.: Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system, Nutr. Res. 17 (1997) 1479-1484.

Jain, M.: Dairy foods, dairy fats, and cancer: a review of epidemiological evidence, Nutr. Res. 18 (1998) 905-937.

Jiang, J., Björck, L., Fondén, R.: Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures, J. Appl. Microbiol. 85 (1998) 95-102.

Jiang, J., Wolk, A., Vessby, B.: Relation between the intake of milk fat and the occurrence of conjugated linoleic acid in human adipose tissue, Am. J. Clin. Nutr. 70 (1999) 21-27.

- Juaneda, P., Sébédio, J.-L.: Combined silver-ion and reversed-phase high-performance liquid chromatography for the separation and identification of C₂₀ metabolites of conjugated linoleic acid isomers in rat liver lipids, *J. Chromatogr. B* 724 (1999) 213-219.
- Katan, M.B., Zock, P.L.: Trans fatty acids and their effects on lipoproteins in humans, *Annu. Rev. Nutr.* 15 (1995) 473-493.
- Kavanaugh, C.J., Liu, K.-L., Belury, M.A.: Effect of dietary conjugated linoleic acid on phorbol ester-induced PGE₂ production and hyperplasia in mouse epidermis, *Nutr. Cancer* 33 (1999) 132-138.
- Kelley, D., Taylor, P., Rudolph, I., Benito, P., Nelson, G., Mackey, B., Erickson, K.: Dietary conjugated linoleic acid did not alter immune status in young healthy women. *Lipids* 35 (2000) 1065-1071.
- Kelly, M.L., Berry, J.R., Dwyer, D.A., Griinari, J.M., Chouinard, P.Y., Van Amburgh, M.E., Bauman, D.E.: Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows, *J. Nutr.* 128 (1998) 881-885.
- Kepler, C.R., Hirons, K.P., McNeill, J.J., Tove, S.B.: Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*, *J. Biol. Chem.* 241 (1966) 1350-1354.
- Kepler, C.R., Tucker, W.P., Tove, S.B.: Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleate Δ^{12} -cis, Δ^{11} -trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*, *J. Biol. Chem.* 245 (1970) 3612-3620.
- Knekt, P., Järvinen, R., Seppänen, R., Pukkala, E., Aromaa, A.: Intake of dairy products and the risk of breast cancer, *Brit. J. Cancer* 73 (1996) 687-691.
- Koch, M., Gaedke, H., Jenkins, H.: Family history of ovarian cancer patients: a case-control study, *Int. J. Epidemiol.* 18 (1989) 782-785.
- Koletzko, B.: Trans fatty acids may impair biosynthesis of long-chain polyunsaturates and growth in man, *Acta Paediatrica*, 81 (1992) 302-306.
- Kramer, J.K.G., Fellner, V., Dugan, M.E.R., Sauer, F.D., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P.: Evaluating Acid and Base Catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids, *Lipids*, 32 (1997) 1219-1228.
- Kramer, J.K.G., Parodi, P.W., Jensen, R.G., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Adlof, R.O.: Rumenic acid: A proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products, *Lipids* 33 (1998) 835.
- Kritchevsky, D.: Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid, *Br. J. Nutr.* 83 (2000) 459-465.

- Kritchevsky, D., Tepper, S., Wright, S., Tso, P., Czarnecki, S.: Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits, *J. Am. Coll. Nutr.* 19 (2000) 472-477.
- Kroke, A., Boeing, H.: Ernährung und Krebs – epidemiologische Evidenz, in: Referate der 5. Ernährungsfachtagung der Dt. Ges. für Ernährung, 13.11.1997 in Jena, 17-26 (1997).
- Latham, M.J., Storry, J.E., Sharpe, M.E.: Effect of low roughage diets on the microflora and lipid metabolism in the rumen, *Appl. Microbiol.* 24 (1972) 871-877.
- Lavillonnière, F., Martin, J.C., Bougnoux, P., Sebedio, J.-L.: Analysis of conjugated linoleic acid isomers and content in french cheese, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75 (1998a) 343-352.
- Lavillonnière, F., Riboli, E., Martin, J.C., Lhuillery, C.: High conjugated linoleic acids (CLA) content in breast adipose tissue protects against breast cancer, Abstract Tagungsband, Dundee-Meeting Mai 1998 (1998b).
- Lee, K.N., Kritchevsky, D., Pariza, M.W.: Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 108 (1994) 19-25.
- Lee, K.N., Pariza, M.W., Ntambi, J.M.: Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearoyl-CoA desaturase mRNA expression, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 248 (1998) 817-821.
- Lemke P.J., Taylor S.L.: Allergic reactions and food intolerances. In: *Nutritional Toxicology*, Kotsonis F.N., Mackey H., Hjelle J. (eds.) , Raven Press Ltd., New York, 1994, 117-137.
- Li, Y., Watkins, B.A.: Conjugated linoleic acids alter bone fatty acid composition and reduce ex vivo prostaglandin E₂ biosynthesis in rats fed n-6 or n-3 fatty acids, *Lipids* 33 (1998) 417-425.
- Lin, H., Boylston, T.D., Luedecke, L.O., Shultz, T.D.: Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products, *J. Dairy Sci.* 78 (1995) 2358-2365.
- Lin, H., Boylston, T.D., Luedecke, L.O., Shultz, T.D.: Factors affecting the conjugated linoleic acid content of cheddar cheese, *J. Agric. Food Chem.*, 46 (1998) 801-807.
- Löffler, G., Petrides, E.: *Stoffwechsel der Lipide in Biochemie und Pathobiochemie*, 6. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1998)
- Ma, D.W.L., Wierzbicki, A.A., Field, C.J., Clandinin, M.T.: Conjugated linoleic acid in Canadian dairy and beef products, *J. Agric. Food Chem.* 47 (1999) 1956-1960.
- Martin, G.S., Lunt, D.K., Britain, K.G., Smith, S.B.: Postnatal development of stearoyl coenzyme A desaturase gene expression and adiposity in bovine subcutaneous adipose tissue, *J. Anim. Sci.* 77 (1999) 630-636.

- Martin, J.-C., Grégoire, S., Siess, M.-H., Genty, M., Chardigny, J.-M., Berdeaux, O., Juanéda, P., Sébédio, J.-L.: Effect of conjugated linoleic acid isomers on lipid-metabolizing enzymes in male rats, *Lipids* 35 (2000) 91-98.
- Marx, F., Classen, E.: Analysis of epoxy fatty acids by GC-MS of their 4,4-dimethyloxazoline derivatives, *Fat Sci. Technol.* 96 (1994) 207-211.
- Medina, E., Horn, W., Keim, N., Havel, P., Benito, Kelley, D., Nelson, G., Erickson, K.: Conjugated linoleic acid supplementation in humans: Effects on circulating leptin concentrations and appetite. *Lipids* 35 (2000) 783-788.
- Merill, A.H. Jr, Schroeder, J.J.: Lipid modulation of cell function, *Annu. Rev. Nutr.* 13 (1993) 539-559.
- Mikolajczak, K.L., Bagby, M.O.: Partial reduction of α -eleostearic acid with hydrazine, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 42 (1965) 43-45.
- Moers A., Schrezenmeir J.: Palmitic acid but not stearic acid inhibits NO-production in endothelial cells. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* 105 (Suppl. 2) (1997) 78-80.
- Moers A., Fenselau S., Schrezenmeir J.: Chylomicrons induce E-Selectin and VCAM-1 expression in endothelial cells. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* 105 (Suppl. 2) (1997) 35-37.
- Morris, L.J.: Separation of isomeric long-chain polyhydroxy acids by thin-layer chromatography, *J. Chromatogr.* 12 (1963) 321-328.
- Morrow, J.D., Roberts II, L.J.: Mass spectrometry of prostanoids: F2-Isoprostanes produced by Non-Cyclooxygenase free radical-catalyzed mechanism, *Methods Enzymol.* 233 (1994) 163-174.
- Mossoba, M.M., McDonald, R.E., Armstrong, D.J., Page, S.W.: Identification of minor C₁₈ triene and conjugated diene Isomers in hydrogenated soybean oil and margarine by GC-MI-FTIR spectroscopy, *J. Chromatogr. Sci.* 29 (1991) 324-330.
- Mossoba, M.M., Niemann, R.A., Chem, J.-Y.T.: Picogram level quantitation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in fish extracts by capillary gas chromatography/matrix isolation/fourier transform infrared spectrometry. *Anal. Chem.* 61(1989) 1678-1685.
- Moya-Camarena, S.Y., Vanden Heuvel, J.P., Belury, M.A.: Conjugated linoleic acid activates peroxisome proliferator-activated receptor α and β subtypes but does not induce hepatic peroxisome proliferation in the Sprague-Dawley rats, *Biochim. Biophys. Acta* 1436 (1999) 331-342.
- Müller, H., Mrongovius, R., Seyberth, H.W.: Improved sample preparations for the quantitative mass spectrometric determination of prostaglandins in biological samples, *J. Chromatogr.* 226 (1981) 450-454.

Munday, J.S., Thompson, K.G., James, K.A.C.: Dietary conjugated linoleic acids promote fatty streak formation in the C57BL/6 mouse atherosclerosis model, *Br. J. Nutr.* 81 (1999) 251-255.

Nestel, P., Noakes, M., Belling, B., McArthur, R., Clifton, P., Janus, E., Abbey, M.: Plasma lipoprotein lipid and Lp[a] changes with substitution of elaidic acid for oleic acid in the diet, *J. Lipid Res.* 33 (1992) 1029-1033.

Newby, C.S., Mallet, A.I.: Rapid simultaneous analysis of prostaglandin E₂, 12-hydroxyeicosatetraenoic acid and arachidonic acid using high performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry, *Rapid. Commun. Mass Spectrom.* 11 (1997) 1723-1727.

Nicolosi, R.J., Rogers, E.J., Kritchevsky, D., Scimeca, J.A., Huth, P.J.: Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 22 (1997) 266-277.

Nikolova-Damyanova, B., Herslof, B.G., Christie W.W.: Silver ion high-performance liquid chromatography of derivatives of isomeric fatty acids, *J. Chromatogr.* 609 (1992) 133-140.

Nikolova-Damyanova, B., Christie, W.W., Herslöf, B.G.: Retention properties of triacylglycerols on silver ion high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 694 (1995) 375-380.

Nikolova-Damyanova, B., Momchilova, S., Christie, W.W.: Silver ion high-performance liquid chromatographic separation of conjugated linoleic acid isomers, and other fatty acids, after conversion to p-methoxyphenacyl derivatives, *J. High Resol. Chromatogr.* 23 (2000) 348-352.

Nourooz-Zadeh, J., Gopaul, N.K., Barrow, S., Mallet, A.I., Anggard, E.E.: Analysis of F₂-isoprostanes as indicators of non-enzymatic lipid peroxidation in vivo by gas chromatography-mass spectrometry: development of a solid-phase extraction procedure, *J. Chromatogr. B* 667 (1995) 199-208.

Nourooz-Zadeh, J.: Gas chromatography- mass spectrometry assay for measurement of plasma lipoprostanes (GC-MS/NICI), *Methods Enzymol.* 300 (1999) 13-17.

Nugteren, D.H.: Inhibition of prostaglandin biosynthesis by 8cis, 12trans, 14cis-eicosatrienoic acid and 5cis, 8cis, 12trans, 14cis-eicosatetraenoic acid, *Biochim.. Biophys. Acta* 1213 (1970) 171-176.

Nugteren, D.H, Christ-Hazelhof, M.: Naturally occurring conjugated octadecatrienoic acids are strong inhibitors of prostaglandin biosynthesis, *Prostaglandins* 33 (1987) 403-417.

O'Connor, R.T.: Application of infrared spectrophotometry to fatty acid derivatisation, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 33 (1956) 1-15.

-
- Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E., Albright, K., Liu, W.: Conjugated linoleic acid (CLA) reduces body fat. *Experimental Biology* 96, Washington DC, April 14-17 FASEB J. (1996) A560.
- Pariza, M.W., Yang, X.-Y.: Method of producing conjugated fatty acids, U.S. patent 5,856,149 (1999).
- Park, Y., Albright, K.J., Liu, W., Storkson, J.M., Cook, M.E., Pariza, M.W.: Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice, *Lipids* 32 (1997) 853-858.
- Park, Y., Albright, K.J., Storkson, J.M., Liu, W., Pariza, M.W.: Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice, *Lipids* 34 (1999a) 235-241.
- Park, Y., Albright, K.J., Storkson, J.M., Liu, W., Cook, M.E., Pariza, M.W.: Changes in body composition during feeding and withdrawal of dietary conjugated linoleic acid, *Lipids* 34 (1999b) 243-248.
- Park Y., Albright K.J., Cai Z.Y., Pariza M.W.: Comparison of methylation procedures for conjugated linoleic acid and artifact formation by commercial (trimethylsilyl)diazomethane, *J. Agric. Food Chem.* 49 (2001) 1158–1164.
- Parodi, P.W.: Conjugated octadecadienoic acid of milk fat, *J. Dairy Sci.* 60 (1977) 1550-1553.
- Petrek, J.A., Hudgins, L.C., Ho, M.N., Bajorunas, D.R., Hirsch, J.: Fatty acid composition of adipose tissue, an indication of dietary acids, and breast cancer prognosis, *J. Clin. Oncol.* 15 (1997) 1377-1384.
- Pfalzgraf, A. Veränderung der Fettsäuremuster unserer Nahrung – Notwendigkeit, Möglichkeiten und Konsequenzen, Dissertation, Universität Hamburg (1995).
- Pollard, M.R., Gunstone, F.D., James, A.T., Morris, L.J.: Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver, *Lipids* 15 (1980) 306-314.
- Powell, W.S., Wang, L., Khanapure, S.P., Manna, S., Rokach, J.: High-pressure liquid chromatography of oxo-eicosanoids derived from arachidonic acid, *Anal. Biochem.* 247 (1997) 17-24.
- Precht, D., Molzentin, J.: Trans fatty acids: implications for health, analytical methods, incidence in edible fats and intake, *Nahrung* 39 (1995) 343-374.
- Ratnayake, W.M.N., Pelletier, G.: Positional and geometric isomers of linoleic acid in partially hydrogenated oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69 (1982) 95-105.
- Rickert, R., Steinhart, H., Fritsche, J., Sehat, N., Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Roach, J.A.G., Eulitz, K., Ku, Y, Kramer, J.K.G: Enhanced resolution of conjugated linoleic acid isomers by tandem-column silver-ion high performance liquid chromatography, *J. High Resol. Chromatogr.* 22 (1999) 144-148.

Roche Lexikon Medizin, 4. Auflage, Urban & Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore (1998).

Rosenfeld, J.M., Moharir, Y., Hill, R.: Direct solid-phase isolation and oximation of PGE₂ from plasma and quantitation by gas chromatography with mass spectrometric detection in the negative-ion chemical ionisation mode, *Anal. Chem.* 63 (1991) 1536-1541.

Rosenfeld, J.M.: Review: Solid-Phase analytical derivatisation: enhancement of sensitivity and selectivity of analysis, *J. Chromatogr. A* 843 (1999) 19-27.

Salminen, I., Mutanen, M., Jauhiainen, M., Aro, A.: Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum, *J. Nutr. Biochem.* 9 (1998) 93-98.

Santora, J.E., Palmquist, D.L. Roehrig, K.L.: Trans-Vaccenic acid is desaturated to conjugated linoleic acid in mice, *J. Nutr.* 130 (2000) 208-215.

Sauers, R.R.: Preparation and carboxylation of the Grignard reagent from the syn-7-bromo-norbornene, *Chem. Ind.* (1960) 176-177.

Schrör, K. (Hrsg.): Dictionary of prostaglandins and related compounds, Medikon Verlag, München (1990).

Scimeca, J.A.: Toxicological evaluation of dietary conjugated linoleic acid in male Fischer 344 rats, *Food Chem. Toxicol.* 36 (1998) 391-395.

Sébédio, J.L., Ackman, R.G.: Calculation of GLC retention data for some accessible C20 isomeric cis-unsaturated fatty acids, *J. Chromatogr. Sci.* 20 (1982) 231-234.

Sébédio, J.-L., Juaneda, P., Dobson, G., Ramilison, I., Martin, J.C., Chardigny, J.M., Christie, W.W.: Metabolites of conjugated linoleic acid (CLA) in the rat, *Biochim. Biophys. Acta* 1345 (1997) 5-10.

Sehat, N., Yurawecz, M.P. Roach, J.A.G., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Ku, Y.: Silver ion high-performance liquid chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers, *Lipids* 33 (1998) 217-221.

Sehat, N., Rickert, R., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Yurawecz, M.P. Roach, J.A.G., Adlof, R.O., Morehouse, K.M., Fritsche, J., Eulitz, K.D., Steinhart, H., Ku, Y.: Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver ion-high-performance liquid chromatography, *Lipids* 34 (1999) 407-413.

Seifert, M.F., Watkins, B.A.: Role of dietary lipid and antioxidants in bone metabolism. *Nutr. Res.* 17 (1997) 1209-1228.

Serov, S.F., Scully, R.E., Sobin, L.H.: Histological typing of ovarian tumors, International Histological Classification of Tumors No. 9, WHO, Genf (1973).

Shantha, N.C., Decker, E.A., Ustunol, Z.: Conjugated linoleic acid concentration in processed cheese, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69 (1992) 425-428.

- Shantha, N.C., Ram, L.N., O'Leary, J., Hicks, C.L., Decker, E.A.: Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage, *J. Food Sci.* 60 (1995) 695-697.
- Shantha, N.C., Moody, M.G., Tabeidi, Z.: Conjugated linoleic acid concentration in semimembraneous muscle of grass- and grain-fed and zeranol-implanted beef cattle, *J. Muscle Food* 8 (1997) 105-110.
- Sheppard, A.J., Iverson, J.L.: Esterification of fatty acids for gas-liquid chromatographic analysis, *J. Chromatogr. Sci.* 13 (1975) 448-452.
- Shultz, T.D., Chew, B.P., Seaman, W.R.: Differential stimulatory and inhibitory responses of human MCF-7 breast cancer cells to linoleic acid in culture, *Anticancer Res.* 12 (1992) 2143-2146.
- Siouffi, A.M., Traynard, J.-C.: The use of thallium nitrate coated silica as a stationary phase in HPLC, *J. Chromatogr. Sci.* 15 (1977) 469-474.
- Sisk, M., Azain, M.J., Hausman, D.B., Jewell, D.E.: Effect of conjugated linoleic acid on fat pad weights and cellularity in sprague-dawley and zucker rats, *FASEB J.* 12 (1998), A536.
- Smedman, A.E.M., Gustafsson, I.-B., Berglund, L.G.T., Vessby, B.O.H.: Pentadecenoic acid in serum as a marker for intake of milk fat: relations between intake of milk fat and metabolic risk factors, *Am. J. Clin. Nutr.* 69 (1999) 22-29.
- Smith, W.L., Borgeat, P., Fitzpatrick, F.A.: The Eicosanoids: Cyclooxygenase, Lipoxygenase and Epoxygenase pathways, in *Biochemistry of lipids, lipoproteins and Membranes*, Hrsg: Vance, Elsevier, Amsterdam, 297-325 (1991).
- Spitzer, V., Marx, F., Pfeilsticker, K.: Electron impact mass spectra of the oxazoline derivatives of some conjugated diene and triene C₁₈ fatty acid, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71 (1994) 873-876.
- Spitzer, V.: Structure analysis of fatty acids by gas chromatography – Low resolution electron impact mass spectrometry of their 4,4-dimethyloxazolin derivatives, *Prog. Lipid Res.* 35 (1997) 307-408.
- Stegner, H.-E.: *Gynäkologie und Geburtshilfe*, 5.Auflage, Enke Reihe zur AO[Ä], Stuttgart (1994).
- Sugano, M., Tsujita, A., Yamasaki, M., Yamada, K., Ikeda, I., Kritchevsky, D.: Lymphatic recovery, tissue distribution, and metabolic effects of conjugated linoleic acid in rats. *J. Nutr. Biochem.* 8 (1997) 38-43.
- Sugano, M., Tsujita, A., Yamasaki, M., Noguchi, M., Yamada, K.: Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediators and immunoglobulins in rats, *Lipids* 33 (1998) 521-527.

Timm, M.: α -Tocopherol in Fleisch und Fleischprodukten, Einfluss der Fütterung auf α -Tocopherol Konzentration, Qualitätsparameter und Lagerstabilität, Dissertation, Universität Hamburg (2000) Kap. 4.2 und 4.3.

Truitt, A., McNeill, G., Vanderhoek, J.Y.: Antiplatelet effects of conjugated linoleic acid isomers, *Biochim. Biophys. Acta* 1438 (1999) 239-246.

Tsikis, D.: Application of gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry to assess in vivo synthesis of prostaglandins, thromboxane, leukotriens, isoprostanes and related compounds in humans, *J. Chromatogr. B* 717 (1998) 201-245.

Turek J.J., Li Y., Schoenlein I.A, Allen G.D., Watkins B.A.: Modulation of macrophage cytokine production by conjugated linoleic acids is influenced by the dietary n-6:n-3 fatty acid ratio. *J. Nutr. Biochem.* 9 (1998) 258-266.

Vidgren, H.M., Louheranta, A.M., Ågren, J.J., Schwab, U.S., Uusitupa, M.I.J.: Divergent incorporation of dietary trans fatty acids in different serum lipid fractions, *Lipids* 1998) 955-962.

Visonneau, S., Cesano, A., Tepper, S.A., Scimeca, J.A., Santoli, D, Kritchevsky, D.: Conjugated linoleic acid suppresses the growth of human breast adenocarcinoma cells in SCID-mice, *Anticancer Res.* 17 (1997) 969-974.

Ward, R.J., Travers, M.T., Richards, S.E., Vernon, R.G., Salter, A.M., Buttery, P.J., Barber, M.C.: Stearoyl-CoA-desaturase mRNA is transcribed from a single gene in the ovine genome, *Biochim. Biophys. Acta* 1391 (1998) 145-156.

Watson, D.M., Kelly, R.W., Hawkins, R.A., Miller, W.R.: Prostaglandins in human mammary cancer, *Br. J. Cancer* 49 (1984) 459-464.

Weber, C., Höller, M.: Determination of 6-keto-PGF_{1 α} , 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} , Thromboxane B₂, 2,3-dinor-thromboxane B₂, PGE₂, PGD₂ and PGF_{2 α} in human urine by GC-negative ion chemical ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr.* 562 (1991) 599-611.

West, D.B., DeLany, J.P., Camet, P.M., Blohm, F., Truett, A.A., Scimeca, J.A.: Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse, *Am. J. Physiol.-Reg. I.* 44 (1998) R667-672.

Whigham, L.D., Cook, M.E., Atkinson, R.L.: Conjugated linoleic acid: Implications for human health. *Pharmacol. Res.* 42 (2000) 503-510.

Wolff, R.L., Combe, N.A., Precht, D., Molkentin, J., Ratnayake, W.M.N.: Accurate determination of trans-18:1 isomers by capillary gas-liquid chromatography on cyanoalkyl polysiloxane stationary phases, *Oléagineux Corps Gras Lipides* 5 (1998) 17-21.

-
- Wübert, J., Reder, E., Kaser, A., Weber, P.C., Lorenz, R.L.: Simultaneous solid phase extraction, derivatization, and gaschromatographic mass spectrometric quantification of thromboxane and isoprostans in Urine, *Anal. Chem.* 69 (1997) 2143-2146.
- Yang, M., Pariza, M.W., Cook, M.E.: Dietary conjugated linoleic acid protects against end stage disease of systematic lupus erythematosus in the NZB/W F1 mouse. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 22 (2000) 433-439.
- Yurawecz, M.P., Roach, J.A.G., Sehat, N., Mossoba, M.M., Kramer, J.K.G., Fritsche, J., Steinhart, H., Ku, Y.: A new conjugated linoleic acid isomer, 7-trans,9-cis-octadecadienoic acid, in cow milk, cheese, beef and human milk and adipose tissue, *Lipids* 33 (1998) 803-809.
- Zambell, K., Keim, N., Van Loan, M., Gale, B., Benito, P., Kelley, D., Nelson, G.: Conjugated linoleic acid supplementation in humans: Effects on body composition and energy expenditure. *Lipids* 35 (2000) 777-782.
- Zhang, J.Y., Yu, Q.T., Liu, B.N., Huang, Z.H.: Chemical modification in mass spectrometry IV-2-alkenyl-4,4-dimethyloxazolines as derivates for the double bond location of long-chain olefinic acids, *Biom. Environ. Mass Spectrom.* 15 (1988) 33-44.

8 Glossar

3T3-L1 Zellkulturen: Zelllinie zur Analytik der Entwicklung von Leberzellen.

Adipocyten: Fettzellen.

Anaphylaxie: immunologisch bedingte, akute Maximalvariante einer allergischen Allgemeinreaktion, die den ganzen Organismus umfasst und mit typischen Reaktionen einhergeht. Im eigentlichen Sinn auf die IgE-vermittelte Soforttypreaktion beschränkt.

AP2: fatty acid binding protein 2; Fettsäurebindendes Protein 2.

β -Oxidation: Fettsäureabbau mit Bildung von Coenzym A-Fettsäureestern.

Broncho-, Vasokonstriktion: Krampfzustand der Bronchial- bzw. Gefäßmuskulatur.

C57BL/6 Mäuse: schwarze, transgene Mäuse für toxikologische Untersuchungen.

Calcium Ionophor A23187: Calcium-spezifisches Reagens, das zur Einschleusung von Calcium in Zellen und Organellen verwendet wird.

Carnitin-Palmitoyltransferase: Enzym, das durch Umwandlung von Acyl-CoA und Carnitin zum Acylcarnitin den Transport der Fettsäuren durch die mitochondriale Innenmembran ermöglicht.

Chemotaxis: die durch einen chemischen Reiz ausgelöste positive oder negative Richtung auf den Reiz hin bzw. von ihm fort erfolgende Bewegungsreaktion beweglicher Organismen sowie bestimmter Blutzellen.

DMBA: 7,12-Dimethylbenz(a)anthracen; chemisches Agens, das zur Tumorbildung eingesetzt wird .

Epithel: Deckgewebe, das aus, in einer oder mehreren Schichten angeordneten, fast lückenlos zusammengefügt Zellen besteht. Enthält wenig Interzellulärsubstanz und keine Gefäße.

FaO-Zelllinien: Rattenleber-Zelllinie.

Fatty streaks: Ablagerungen aus Fettstreifen in den Aorten.

Fischer 344 Ratten: Genetisch stabile Albinoratte mit längerer Lebensdauer und kleinerer Körpergröße als normale Ratten.

Gefäßendothel: einschichtiges Plattenepithel, das Blut- und Lymphgefäße auskleidet.

Granulozyten: Der Infektionsabwehr dienende weiße Blutkörperchen mit färberisch darstellbaren Zellplasmakörnchen, die durch körpereigene Mediatoren oder durch bakterielle Stoffe angelockt werden.

Histologisch: Funktion und Aufbau von Gewebe betreffend.

Hämatologisch: das Blut betreffend.

IgA, IgG, IgM und IgE: unterschiedliche Klassen von Immunglobulinen, die nach Kontakt mit einem Antigen in Plasmazellen gebildet werden und als Antikörper spezifisch an die Antigene binden.

Kachexie: Gewebeschwund des Organismus aufgrund tiefgreifender Störungen aller Organfunktionen.

LDL, HDL: low density lipoprotein, high density lipoprotein; LDL: Lipoproteine geringer Dichte, enthalten ca. 80 % des Serumcholesterins. Eiweißkomponente ist hauptsächlich Apolipoprotein B. HDL: Lipoproteine hoher Dichte und mit hohem Proteinanteil, Haupteiweißkomponenten sind Apolipoproteine AI und AII.

Leptin: Sekretorisches Protein, dass nach Sekretion ins Blut im Hypothalamus durch eine Verminderung der Ausscheidung eines nahrungsregulierenden Hormons beteiligt ist.

Lipoproteine: Aus Eiweiß und Lipiden bestehende Moleküle, die den Transport der wasserunlöslichen Lipide im Blut ermöglichen. Apolipoprotein B bezeichnet das Hauptprotein cholesterinreicher Lipoproteine.

Lymphocyten: Weiße Blutkörperchen aus Zellen mit rundem, chromatinreichem Kern und schmalen, stark basophilem Cytoplasmaraum, die der Immunität dienen und die spezifische Fähigkeit zur Antigen-Reaktion besitzen.

MCF-7 Mammakarzinomzellen: Humane, östrogenrezeptor-exprimierende Krebszelllinie zur Untersuchung von Protein- und Nucleotidsynthese sowie der Proliferation.

MDA-MB468 Zellen: Humane Krebszelllinie zur Etablierung von Brustkrebs bei SCID-Mäusen.

MNU: Methylnitroso-harnstoff; chemisches Agens, das zur Tumorbildung eingesetzt wird.

Monocyten: größte, weiße Blutzellen, reich an Fermenten, die u.a. zur Migration befähigt sind.

NZB/W F1-Mäuse: Autoimmune Mäuse mit genetisch bedingtem, starkem Gewichtsverlust.

Papilloma: aus gefäßhaltigem Bindegewebe bestehende und mit Epithel bekleidete, meist gutartige Haut- bzw. Schleimhautwucherung.

Phospholipase A2: Enzym, das Arachidonsäure aus Zellmembranen freisetzt.

Postprandiale Chylomikronen: nach der Nahrungsaufnahme gebildete, aus Triacylglycerinen, Phosphatiden, Cholesterin und Proteinen bestehende Lipid-Protein-Partikel geringer Dichte.

PPAR: Peroxisom-proliferationsaktivierter Rezeptor: Steroidrezeptor zur Regulierung der Genexpression von Enzymen des Fettstoffwechsels.

Prädiabetische fa/fa Ratten: fettleibige Ratten zur Untersuchung von Diabetes.

Proliferation: Vermehrung von Gewebe durch Wucherung oder Sprossung, meist im Rahmen von Entzündung, Wundheilung oder Regeneration.

Proteinkinase C: Enzymfamilie, die durch Proteolyse und Membranlipide aktiviert werden und Calcium-abhängig ist. Wichtige Rolle bei hormoneller Signaltransduktion und Wachstum, Differenzierung und möglicherweise Karzinomentstehung.

SCID-Mäuse: Mäuse mit einem schweren kombinierten Immundefekt (Störungen der B- und/oder T-Lymphozytenentwicklung bzw. Stammzellendefekte).

Sprague-Dawley Ratten: Albinoratten, allgemein anerkanntes Tiermodell.

Stearoyl-CoA-Desaturase (SCD): auch: Δ^9 -Desaturase: Schlüsselenzym bei der Synthese von einfach ungesättigten Fettsäuren sowie Regulator dieser Synthese im Organismus.

Terminal end buds: Knospengebilde in der weiblichen Brust, das durch Wachstum und Verzweigung aus den vor der ersten Schwangerschaft vorhandenen Milchgängen entsteht.

Thrombin: Serinproteinase, die hauptsächlich die Umwandlung von Fibrin in Fibrinogen katalysiert.

TPA: 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-acetat; chemisches Agens, das zur Tumorpromovierung eingesetzt wird.

Publikationsliste

Buchkapitel

- J. Fritsche, R. Rickert, H. Steinhart: Formation, Contents, and Estimation of Daily Intake of Conjugated Linoleic Acid Isomers and trans-Fatty Acids in Foods in: Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.K.G. Kramer, M.W. Pariza and G.J. Nelson (eds) Vol. 1., AOCS Press, Champaign, IL (1999) S. 378-396 .
- R. Rickert, H. Steinhart: Konjugierte Linolsäureisomere (CLA) in: Praxishandbuch Functional Food, H.F. Erbersdobler, A.H. Meyer (eds), Loseblattsammlung, Behrs Verlag, Hamburg (1999), Kap. 1.3, S. 1-24.

Übersichtsartikel

- J. Fritsche, R. Rickert, H. Steinhart, M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, N. Sehat, J.A.G. Roach, J.K.G. Kramer and Y. Ku: Conjugated linoleic acid (CLA) isomers: formation, analysis, amounts in foods, and dietary intake, *Fett/Lipid*, 101: 272-276 (1999)
- R. Rickert, H. Steinhart: Die Bedeutung der konjugierten Linolsäureisomere (CLA), *Ernährungsumschau*, 48: 4-7 (2001)
- S. Gnädig, R. Rickert, J.-L. Sebedio, H. Steinhart: Conjugated linoleic acid (CLA): physiological effects and production, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 103: 56-61 (2001)
- H. Steinhart, K. Winkler, R. Rickert: Contents and analytical aspects of trans and conjugated fatty acids especially in food, *Ann. Nutr. Metab, Suppl.* 1 (2001)

Originalarbeiten

- R. Rickert, H. Steinhart, J. Fritsche, N. Sehat, M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.A.G. Roach, K. Eulitz, Y. Ku and J.K.G. Kramer: Enhanced resolution of conjugated linoleic acid isomers by tandem-column silver-ion high performance liquid chromatography, *J. High Resol. Chromatogr.* 22:144–148 (1999)
- R. Rickert, J. Fritsche, H. Steinhart: Analytik von CLA und deren Gehalte in Lebensmitteln und Humangewebe, *Lebensmittelchemie* 53, 34 (1999)
- R. Rickert, H. Steinhart: Analytik von konjugierten Linolsäureisomeren (CLA) und deren Bestimmung in Lebensmitteln, *Lebensmittelchemie*, 53, 96 (1999)
- H. Steinhart, J. Fritsche, R. Rickert: Trans-Fettsäuren in Lebensmitteln und Gewebe, *Lebensmittelchemie*, 53, 96 (1999)
- N. Sehat, R. Rickert, M.M. Mossoba, J.K.G. Kramer, M.P. Yurawecz, J.A.G. Roach, R.O. Adlof, K.M. Morehouse, J. Fritsche, K.D. Eulitz, H. Steinhart and Y. Ku: Improved separation of conjugated fatty acid methyl esters by silver ion-high-performance liquid chromatography, *Lipids* 34:407–413 (1999)

- J.L. Mpagi, R. Rickert, H. Steinhart, N.W. Brattig, Hyperreactive Onchocerciasis exhibits reduced arachidonate and linoleate levels in serum triglycerides. Am. J. Trop. Med. Hyg. 62: 705-710 (2000)
- R. Rickert, A. Schnell, H. Steinhart: Analytik von konjugierten Linolsäureisomeren, Lebensmittelchemie, 54, 21 (2000)
- R. Rickert, W. Schabbel, H. Steinhart: Gehalte konjugierter Linolsäureisomere (CLA) in Fett- und Tumorgewebe, Lebensmittelchemie, 54, 142 (2000)
- R. Rickert, K. Winkler, H. Steinhart: Lagerung und Haltbarkeit von Spickspeck, Lebensmittelchemie, 55, 18-19 (2001)
- K. Nürnberg, G. Nürnberg, K. Ender, S. Lorenz, K. Winkler, R. Rickert, H. Steinhart: N-3 fatty acids and conjugated linoleic acids of *longissimus* muscle in beef cattle, Eur. J. Lipid Sci. Technol, eingereicht (2002)

Vorträge

- H. Steinhart, R. Rickert, J. Fritsche, S. Gnädig, K. Winkler: Trans-Fettsäuren und konjugierte Linolsäureisomere, Dr. Oetker, Bielefeld, August 1998
- R. Rickert, H. Steinhart: Analytik von konjugierten Linolsäureisomeren (CLA) und deren Bestimmung in Lebensmitteln, Regionaltagung Fachgruppe Lebensmittelchemie der GDCh, Hamburg, März 1999
- H. Steinhart, J. Fritsche, R. Rickert: Transfettsäuren in Lebensmitteln, Plasma und Gewebe, Regionaltagung der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, Hamburg, März 1999
- H. Steinhart, R. Rickert: Conjugated linoleic acid – analysis, occurrence, and application as Functional Food, Würz-burger Kolloquium, Heidelberg, März 1999
- H. Steinhart, J. Fritsche, R. Rickert: Trans fatty acids in Foods, Plasma and Tissues, FDA, Washington DC, Mai 1999
- H. Steinhart, S. Gnädig, K. Winkler, R. Rickert: German Research on Conjugated Linoleic Acid and a possible funding by the German ministry of education, science research and technology, Concerted action meeting, Dijon, Januar 1999
- R. Rickert, H. Steinhart: Die physiologische Bedeutung von trans-Fettsäuren und konjugierten Linolsäureisomeren und deren Gehalte in Lebensmitteln, VFED regional group, Stade, May 2000.
- H. Steinhart, R. Rickert, K. Winkler, G. Schmidt, S. Linden: Lipide und wasserunlösliche Fettbegleitstoffe aus der Sicht der Lebensmittelchemie, DFG, Karlsruhe, Juni 2000

- R. Rickert: Contents of CLAs in foods and human tissues, SCI-meeting, London, März 2001
- R. Rickert, H. Demmelmair, B. Koletzko, H. Steinhart: Analysis and contents of conjugated linoleic acid isomers (CLA in human plasma, ISF-meeting, Berlin, September 2001
- R. Rickert, H. Demmelmair, B. Koletzko, H. Steinhart: Conjugated linoleic acid isomers (CLA) in human plasma and their change by consumption of a hydrogenated margarine, AOCS-meeting, Montreal, May 2002

Posterpräsentationen

- R. Rickert, J. Fritsche, H. Steinhart: Analytics of conjugated linoleic acid (CLA) and its amount in food, Lebensmittelchemikertag, München, September 1998
- J. Fritsche, R. Rickert, H. Steinhart, N. Sehat, M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, J.A.G. Roach, K. Eulitz and Y. Ku: Application of tandem-column silver-ion high-performance liquid chromatography on the determination of conjugated linoleic acid isomers in dairy products, AOCS-meeting, Orlando, 1999
- R. Rickert, A. Schnell, H. Steinhart: Analysis of conjugated linoleic acid (CLA), Lebensmittelchemikertag, Hamburg, September 1999
- R. Rickert, W. Schabbel, H. Steinhart: Amounts of conjugated linoleic acid isomers (CLA) in human adipose and tumor tissue, Lebensmittelchemikertag, Stuttgart, September 2000.
- R. Rickert, W. Schabbel, H. Steinhart: Conjugated linoleic acid isomers (CLA) in human tissues, DGF- und AFECG-Tagung, Würzburg, September 2000.
- R. Rickert, K. Winkler, H. Steinhart: Lagerung und Haltbarkeit von Spickspeck, Lebensmittelchemikertag, Stuttgart, September 2000.
- S. Gnädig, J.F. Chamba, E. Perreard, S. Chappazze, R. Rickert, H. Steinhart, O. Berdeaux: Influence of cheese processing on conjugated linoleic acid (CLA) content and CLA-isomer composition, International Congress of Nutrition, Wien, August 2001

Wissenschaftliche Kooperationen

- Food and Drug Administration (FDA), Washington DC, USA, Dr. Y. Ku, M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba: Analytische Aspekte von konjugierten Linolsäureisomeren (CLA).
- Allgemeines Krankenhaus Altona, Hamburg, Prof. Dr. V. Lehmann: Studien über den Zusammenhang von CLA in humanem Fett- und Tumorgewebe sowie unterschiedliche Prostaglandingehalte in diesen Geweben.
- Medizinische Poliklinik der Universität München, Prof. Dr. B. Koletzko, Dr. H. Demmelmaier: Studien zu trans-Fettsäuren (TFA) und CLA in humanem Blutplasma.
- Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin, Hamburg, Prof. Dr. D. Büttner, Dr. habil. N. Brattig: Studien zur Produktion von Prostaglandinen durch *Onchocerca volvulus* und *Onchocerca ochengi* sowie die Bestimmung von Fettsäuren in Plasmaproben von Patienten mit Onchozerkose.
- Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin, Hamburg, Prof. Dr. R. Walter, Frau Dr. habil. E. Liebau: Studien zur Bildung von Prostaglandinen.
- Institut National de Recherche Agronomique (INRA), Dijon, Dr. J.-L. Sebedio, S. Gnädig: Gehalte einzelner CLA Isomere in Käse unterschiedlicher Produktionsbedingungen.
- Institut für Tierernährung, TU-München, Prof. Dr. F. Schwarz und Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere (FBN), Dummerstorf, Prof. Dr. K. Ender, Frau Dr. K. Nürnberg: Einfluss der Fütterung auf den CLA-Gehalt und die CLA-Isomerenverteilung von Rindfleisch
- Verschiedene Firmen: Analytische Bestimmung von Fettsäuren in unterschiedlichen Produkten.
- Südzucker AG, Herrn Dr. M. Packert, Geti Wilba, Dr. K. Berger: Untersuchungen zur Lagerung und Haltbarkeit von Spickspeck.

Lebenslauf

Personalien

Name Rainer Rickert
Geburtsdatum und -ort 22. Juli 1969, Bad Segeberg, Deutschland
Familienstand ledig
Nationalität deutsch

Schule

Aug 80 – Mai 89 Städtisches Gymnasium, Bad Segeberg, Abitur

Bundeswehr

Jun 89 2-wöchiger Grundwehrdienst mit anschließender Zurückstellung

Praktika

Aug 89 – Sep 90 Technische Hilfskraft im Vermessungsbüro

Universität

Okt 90 – Mär 93 Christian Albrechts Universität, Kiel, Fachrichtung Chemie
Apr 93 – Jul 94 Universität Hamburg, Fachrichtung Lebensmittelchemie
Aug 94 – Mai 95 Diplomarbeit: "Screening von käseproduzierenden Mikroorganismen im Hinblick auf die Bildung und den Abbau von biogenen Aminen und den Einfluss technologischer Parameter auf den Gehalt von Aminen in Käse"
Okt 95 1. Staatsexamen in Lebensmittelchemie und
Diplom in Lebensmittelchemie
Jan 97 2. Staatsexamen in Lebensmittelchemie

Berufserfahrung

Nov 95 - Apr 96 Wissenschaftlicher Mitarbeiter im IQS, Institut für Qualitätssicherung GmbH
Mai 96 - Dez 96 Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Hygiene-Institut Hamburg
Seit Jan 1997 Wissenschaftlicher Angestellter im IQS, Institut für Qualitätssicherung GmbH

Promotion

Seit Apr 1997 Promotion bei Prof. Dr. Dr. H. Steinhart, Abteilung Lebensmittelchemie, Universität Hamburg
Apr 99 - Jun 99 Forschungsaufenthalt FDA, Washington, USA
Seit Apr 1997 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung Lebensmittelchemie, Universität Hamburg