

**Raman- spektroskopische Untersuchungen
zu den Veränderungen des Gehalts an Carotinoiden
im Produktlebenszyklus von Eiern
von der landwirtschaftlichen Produktion bis zum Verzehr**

vorgelegt von
M. Sc. Karoline Hesterberg
aus Hagen

von der Fakultät III- Prozesswissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Naturwissenschaften
- Dr. rer. nat. -

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzende: Prof. Dr. rer. nat. Andrea Hartwig
Gutachter: Prof. Dr. Dipl. Ing. Dietrich Knorr
Gutachter: Prof. Dr. Dr.- Ing. Jürgen Lademann

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 17.07.2006

Berlin 2006

D 83

Abkürzungsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
1.1. Zielstellung	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
2.1. Carotinoide	3
2.1.1. Generelle Stoffeigenschaften und Wirkungen	3
2.1.2. Beta- Carotin	4
2.1.3. Lutein	5
2.1.4. Lycopin	5
2.1.5. Antioxidativer Wirkungsmechanismus	5
2.1.5.1. Reaktive Sauerstoffspezies und oxidativer Stress	6
2.1.5.2. Reaktionsmechanismus von Carotinoiden	6
2.1.5.3. Bedeutung von Antioxidantien	7
2.2. Raman- spektroskopische Grundlagen	9
2.2.1. Herkömmliche Methodik zur Bestimmung von Antioxidantien: HPLC	9
2.2.2. Physikalische Grundlagen der Raman- Spektroskopie	9
2.2.3. Absorptionsspektren der Carotinoide	12
2.2.4. Aufbau eines Raman- Spektroskops	12
2.2.5. Einsatz der Raman- Spektroskopie und Probenbeschaffenheit	14
2.3. Bedeutung von Carotinoiden in Lebensmitteln	15
2.3.1. Produktgruppen	15
2.3.2. Versorgung mit Carotinoiden	17
2.3.3. Das Ei als Lebensmittel und Carotiniodnährstoffträger	18
2.4. Landwirtschaftliche Legehennenhaltung und Eiererzeugung	20
2.4.1. Einführender Überblick	22
2.4.2. Konventionelle Legehennenhaltung	23
2.4.3. Ökologische Legehennenhaltung	24

2.5. Grundlagen des Carotinoid- Metabolismus beim Huhn.....	26
2.5.1. Verdauungsapparat und Aufnahme durch Futtermittel.....	26
2.5.1.1. Ökologische Futtermittel und Grünfutter.....	27
2.5.2. Resorption im Dünndarm.....	28
2.5.3. Metabolisierung in der Intestinalzelle.....	28
2.5.4. Transportmechanismen.....	28
2.5.4.1. Transport in der Intestinalzelle und in der Lymphe.....	28
2.5.4.2. Transport im Blut.....	29
2.5.5. Speicherung.....	29
2.5.6. Eliminierung.....	30
2.5.7. Die Bedeutung von Carotinoiden in der Embryonalentwicklung.....	31
2.6. Lebensmitteltechnologische Grundlagen.....	34
2.6.1. Eier und Eiprodukte.....	35
2.6.1.1. Schalen- Eier und Flüssigeier.....	35
2.6.1.2. Industrielle Verarbeitung von Eiprodukten.....	36
2.6.2. Pasteurisierung.....	37
2.6.2.1. Pasteurisierung von Lebensmitteln.....	38
2.6.2.2. Wirkung auf Proteine.....	39
2.6.2.3. Wirkung auf Mikroorganismen.....	39
2.6.3. Ozon Behandlung.....	39
2.6.3.1. Ozon Behandlung von Lebensmitteln.....	40
2.6.3.2. Wirkung auf Mikroorganismen.....	40
2.6.4. Ultraschall Behandlung.....	41
2.6.4.1. Ultraschall Behandlung von Lebensmitteln.....	42
2.6.4.2. Wirkung auf Proteine.....	43
2.6.4.3. Wirkung auf Mikroorganismen.....	43
2.6.5. Hochdruck (HHP).....	44
2.6.5.1. HHP bei Lebensmitteln.....	44
2.6.5.2. Wirkung auf Mikroorganismen	45
2.6.2.3. Wirkung auf Proteine.....	46
2.6.6. Hochspannungsimpulse (HSI).....	46
2.6.6.1. HSI bei Lebensmitteln.....	47
2.6.6.2. Wirkung auf Proteine.....	48
2.6.6.3. Wirkung auf Mikroorganismen.....	48

3. MATERIAL UND METHODIK.....	50
3.1. Raman- Spektroskopie.....	50
3.1.1. Absorptionseigenschaften von Carotinoiden.....	50
3.1.2. Experimenteller Aufbau.....	51
3.1.3. Raman- spektroskopischer Nachweis von Carotinoiden.....	52
3.2. Legehennen und Eier.....	54
3.2.1. Herkunft und Haltung der Legehennen.....	54
3.2.2. Herkunft der Eier.....	54
3.3. Versuchsaufbau und Durchführung	55
3.3.1. Struktureller Versuchsaufbau.....	55
3.3.2. Vergleich von ökologischen und konventionellen Eiern.....	56
3.3.3. Haltungsformen.....	56
3.3.4. Carotinoid- Metabolismus.....	56
3.3.5. Lagerungsverfahren.....	57
3.3.6. Konservierungsverfahren.....	58
3.3.7. Verarbeitungsverfahren.....	59
3.3.8. Nichtinvasive online- Messungen in der menschlichen Haut.....	59
3.4. Lebensmitteltechnologische Konservierungsprozesse.....	60
3.4.1. Pasteurisierung Schalen- und Flüssigeier.....	60
3.4.2. Ultraschall Behandlung Schalen- und Flüssigeier.....	60
3.4.3. Ozonbehandlung Schaleneier.....	61
3.4.4. Hochdruck Behandlung Flüssigeier.....	61
3.4.5. Hochspannungsimpulsbehandlung Flüssigeier.....	62
4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	63
4.1. Eichung.....	63
4.2. Effekte der landwirtschaftlichen Produktion auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei.....	65
4.2.1. Auswirkungen verschiedener Haltungsformen von Legehennen auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei.....	65

4.2.1.1. Vergleich von Eiern aus ökologischer und konventioneller Legehennenhaltung.....	65
4.2.1.2. Konventionelle Legehennenhaltung.....	69
4.2.2. Auswirkungen des Carotinoid- Metabolismus von Legehennen auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei.....	71
4.2.2.1. Rassespezifische Betrachtungen.....	71
4.2.2.2. Ernährungsphysiologische Versuchsreihe.....	73
4.2.2.3. Carotinoidakkumulation im Eigelb und die embryonale Entwicklung.....	79
4.3. Effekte aus Lagerungs- und industriell- lebensmitteltechnologischen Verarbeitungsverfahren auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei und Eiprodukten.....	82
4.3.1. Auswirkungen unterschiedlicher Lagerungsverfahren auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei und Eiprodukten.....	82
4.3.2. Auswirkungen unterschiedlicher Konservierungsverfahren auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei und Eiprodukten.....	86
4.4. Effekte von Zubereitungsverfahren privater Haushalte auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei.....	91
4.4.1. Kochen.....	91
4.4.2. Rührei.....	93
4.5. Effekte auf den Carotinoidstatus des Menschen bei Verzehr von ökologischen Eiern.....	94
5. SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICK.....	96
5.1. Landwirtschaftliche Produktion	96
5.2. Lebensmitteltechnologie.....	98
5.3. Konsument.....	99
6. ZUSAMMENFASSUNG.....	101
7. SUMMARY.....	103
8. LITERATURVERZEICHNIS.....	105

ANHANG

Abkürzungsverzeichnis

AMD	Altersbedingte Makuladegeneration
Ar	Argon (Laser)
ATP	Adenosintriphosphat
β	Beta (Carotin)
C=C	Kohlenstoffdoppelbindung
Car	Carotinoide
CCD	Charge Coupled Device (Kamera)
cm^{-1}	Wellenlänge
DNA	Desoxyribonukleinsäure
E. coli	Escherischia coli
HDL	Lipoprotein hoher Dichte
HHP	High hydrostatic pressure
HSI	Hochspannungsimpulse (PEF= Pulsed electric fields)
HPLC	High performance liquid chromatography
h ν 0	Laserstrahlung
KBE	Keimbildende Einheiten
kHz	Kilohertz
kV	Kilovolt
kV/ cm	Feldstärke
IE	Internationale Einheit
IU	International Unit
LDL	Lipoprotein geringer Dichte
log- Stufe	Logarithmus Stufen
LWE	liquid whole egg (Flüssigei)
MPa	Megapascal
μg	Mikrogramm
nm	Nanometer
O ₃	Ozon
¹ O ₂	Singulett Sauerstoff
ppm	10 ⁻⁶ ; parts per million
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
S. enteritidis	Salmonella enteritidis
Sp	Spektrometer
UST	Ultraschall- thermisch kombinierte Verfahren
UV	Ultraviolettes Licht
VLDL	Lipoprotein sehr geringer Dichte
W	Schallleistung
W/ cm ²	Schallintensität
W/ cm ³	Schallenergiedichte
ZMP	Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Übersicht der Carotine und Xanthophylle.....	3
Abbildung 2: Antioxidative Aktivität von Lycopin im Vergleich zu β - Carotin.....	7
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Prozesse Raman- und Rayleigh Streuung..	11
Abbildung 4: Raman- Spektrum der Haut nach Abzug des Untergrundes unter Anregung durch den Argon- Laser bei 514,5 nm.....	12
Abbildung 5: Absorptionsspektrum von β - Carotin und Lycopin in Ethanol.....	13
Abbildung 6: Schematischer Aufbau eines Raman- Spektrometers.....	14
Abbildung 7: Eierkonsum in Stück 2003 pro Kopf und Jahr ausgewählter Staaten.....	21
Abbildung 8: Einlagerung von Carotinoiden in verschiedenen Zielgeweben bei Broilern und Legehennen.....	30
Abbildung 9: Darstellung der Carotinoid- Konzentrationen im Eigelb, der Eihaut und der Leber des Embryos während der Brutperiode.....	33
Abbildung 10: Schematische Darstellung der Verfahrensprozesse von Eiprodukten.....	37
Abbildung 11: Absorptionsspektren von β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin.....	50
Abbildung 12: Experimenteller Versuchsaufbau.....	51
Abbildung 13: Flexibler Messkopf.....	52
Abbildung 14: Software zur Signalauswertung, Darstellung der Messwerte.....	53
Abbildung 15: Quarzküvetten mit Eigelb gefüllt.....	53
Abbildung 16: Struktureller Aufbau der Versuche.....	55
Abbildung 17: Überblick über die Stall- und Freilandhaltungsperioden der ernährungs- physiologischen Versuchsreihe zum Carotinoid- Metabolismus.....	57
Abbildung 18: Aufbau der Lagerungs- und Konservierungsprozesse.....	58
Abbildung 19: Ultraschall Sonotrode und Generator.....	61
Abbildung 20: Aufbau des Hochdruckbehälters.....	62
Abbildung 21: Versuchsaufbau Hochspannungsimpulse.....	62
Abbildung 22: Zusammenhang zwischen Raman- Lasersignal und der Konzentration von Eigelb in wässriger Lösung unter Anregung bei 488 nm.....	63
Abbildung 23: Zusammenhang zwischen Raman- Lasersignal und der Konzentration von β - Carotin in Lösung unter Anregung bei 488 nm.....	64
Abbildung 24: Darstellung der Werte ($\mu\text{g/g}$ Eigelb) von ökologischen und konventionellen Eiern, Box and Whisker Plot.....	66
Abbildung 25: Gegenüberstellung der ökologischen Eier aus selbst durchgeführten Experimenten und der gekauften Ökoeier.....	68
Abbildung 26: Mittelwerte von β - Carotin/Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin verschiedener Haltungsformen innerhalb der konventionellen Legehennenhaltung.....	69

Abbildung 27: Vergleich verschiedener Zuchtlinien in der konventionellen Haltung und in der ökologischen Haltung; Darstellung der Box and Wisker Plots.....	71
Abbildung 28: Darstellung der beobachteten Werte der gesamten ernährungs-physiologischen Versuchsreihe.....	73
Abbildung 29: In einzelne Trends zerlegte Regressionsfunktionen der ernährungs-physiologischen Versuchsreihe.....	77
Abbildung 30: Darstellung der Regressionskoeffizienten der einzelnen Trends von β -Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin.....	79
Abbildung 31: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen des Raman-Lasersignals von β - Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin ausgewählter Lagerungsverfahren.....	80
Abbildung 32: Entwicklung des Embryos im Ei.....	81
Abbildung 33: Regressionsfunktionen mit 95% Konfidenzintervall von Lycopin für die Lagerungsverfahren.....	83
Abbildung 34: Darstellung der Regressionsfunktionen mit statistischem Signifikanzniveau für alle Lagerungsverfahren.....	85
Abbildung 35: Darstellung der Regressionsfunktionen mit 95% Konfidenzintervall für β -Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin; Pasteurisierung Schalenei.....	87
Abbildung 36: Fäulnisprozess Woche 8 nach Pasteurisierung, Koagulationserscheinung direkt nach Pasteurisierung.....	88
Abbildung 37: Gegenüberstellung der Regressionskoeffizienten der Konservierungsverfahren und der Lagerungsverfahren.....	89
Abbildung 38: Konzentration von β - Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin ungekocht, 5 min und 10 min gekocht.....	92
Abbildung 39: Regressionsfunktionen von β - Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin von ungekochten und gekochten Eiern.....	93
Abbildung 40: β - Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin und Lycopinwerte für Rührei.....	94

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Wichtige Quellen für β - Carotin, Lycopin und Lutein.....	16
Tabelle 2: Lycopingehalt von Tomaten und einigen Obstsorten.....	16
Tabelle 3: Plasmakonzentrationen ausgewählter Carotinoide; Mittelwerte aus verschiedenen Studien.....	18
Tabelle 4: Inhaltsstoffe eines (großen) Eies, bzw. Eigelb und Eiweiß.....	19
Tabelle 5: Ausgewählte Carotinoide im Eigelb.....	19
Tabelle 6: Eiererzeugung der Welt, der EU und Deutschland.....	21
Tabelle 7: β - Carotin Gehalt ausgewählter (Grün)- Futtermittel.....	27
Tabelle 8: Ausgangskeimzahlen der Konservierungsverfahren.....	59
Tabelle 9: Statistische Werte ($\mu\text{g/g}$ Eigelb) von ökologischen und konventionellen Eiern.....	67
Tabelle 10: Statistische Werte und Ergebnisse aus „One Sample T- Test“ (einfaktorielle ANOVA) der Haltungsverfahren innerhalb der konventionellen Haltung.....	70
Tabelle 11: Statistische Werte Raman- Lasersignal; Freilandhaltungsperiode Sommer 2005.....	75
Tabelle 12: Statistische Daten und Tests der Regressionsanalyse aufgeteilt nach Trends.....	78
Tabelle 13: Statistische Regressionsanalyse der Lagerungsverfahren.....	84
Tabelle 14: Statistische Regressionsanalyse der Konservierungsverfahren.....	86
Tabelle 15: Statistische Regressionsanalyse; ungekochte und gekochte Eier.....	92

1. EINLEITUNG

In Deutschland wurden 2004 29,8 Millionen Legehennen in Käfighaltung und 1,2 Millionen Legehennen in ökologischer Haltung gehalten (DESTATIS, 2005). Der Anteil der ökologisch gehaltenen Legehennen hat sich in den Jahren von 1996 bis 2001 um das Sechsfache erhöht. Ab 2012 ist die Käfighaltung von Legehennen verboten und das zunächst aus tierschutzorientierten Gründen.

Die vorliegende Dissertation zeigt auf, dass neben diesen tierschutzorientierten Gedanken auch andere, sich nachweislich positiv auf den Menschen auswirkende Effekte, die Bedeutung der ökologischen Haltung von Hühnern verstärken. Dabei, und das soll ausdrücklich vorweg gestellt werden, wird ein ganzheitlicher Ansatz forciert. Das heißt ausgehend von der landwirtschaftlichen Urproduktion, über den lebensmitteltechnologischen Bereich bis zum Endverbraucher, wird zunächst der Carotinoid- Metabolismus von Legehennen, die Auswirkungen von differierenden Lagerungsarten, Lagerungsdauer und Konservierungsprozessen bis hin zu den Auswirkungen der Verarbeitung des „Endproduktes Ei“ mit möglichen Effekten auf den Konsumenten untersucht.

Zugrunde gelegt ist der Anspruch, einen im Rahmen der eigenen Datenexploration identifizierten höheren Gehalt an Carotinoiden im Ausgangsprodukt „Öko- Ei“ durch Einbeziehung der gesamten Produktions-, Lagerungs-, Konservierungs- und Verarbeitungskette, bis zum Endprodukt Ei durch quantitative Raman- spektroskopische Analysen zu begleiten, um so eine qualifizierte Aussage über folgerichtige Behandlungsmethoden im Produktlebenszyklus des Eies treffen zu können.

1. Zielstellung

Die Raman- spektroskopischen Untersuchungen zum Gehalt an Carotinoiden im Ei wurden dabei zwei übergeordneten Zielstellungen unterworfen:

- Durch Analyse der Auswirkungen von landwirtschaftlicher Haltung, Fütterung, Rasse und des tierischen Metabolismus auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei, soll ein Raman- spektroskopisches Qualitätskontrollelement entwickelt werden,

welches den Gehalt an Carotinoiden im Ei als Marker für die ökologische Legehennenhaltung nutzt

- Durch die dynamische Carotinoid Analyse vom Ausgangsprodukt „Öko- Ei“ bis zum Endprodukt unter Einbeziehung des Einflusses des gesamten Produktlebenszyklus (Produktion, Lagerung, Konservierung, Verarbeitung) auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei, soll der Wert des Eies als Carotinoidnährstoffträger für den Menschen identifiziert und quantifiziert werden.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Carotinoide

2.1.1. Generelle Stoffeigenschaften und Wirkungen

Carotinoide sind pflanzlicher Herkunft. Chemisch betrachtet handelt es sich bei den Carotinoiden um polymere Isoprenderivate. Übergeordnet lassen sich die Carotinoide in zwei Gruppen aufteilen: Carotine/Carotinoide und Xanthophylle. Erstere bestehen aus sauerstofffreien Kohlenwasserstoffketten und Xanthophylle aus sauerstoffhaltigen Kohlenwasserstoffketten. Derzeit sind etwa 650 Carotinoide bekannt, wobei im menschlichen Blut nur 15- 20 Carotinoide nachgewiesen wurden (PFANDER, 1992). Die Grundstruktur der Carotinoide besteht aus acht Isopreneinheiten, die symmetrisch aufgebaut sind und eine große Anzahl an konjugierten Doppelbindungen enthalten. Daneben enthalten Carotinoide (bis auf wenige Ausnahmen: Lycopin) einen β - Ionenring, im Gegensatz zu den Xanthophyllen (Ausnahme: β - Cryptoxanthin) ist dieser nicht hydroxyliert, daraus ergibt sich die Provitamin A Aktivität der Carotinoide (BASU & DICKERSON, 1996). Aufbau und generelle Stoffeigenschaften sind übersichtlich in Abbildung 1 dargestellt:

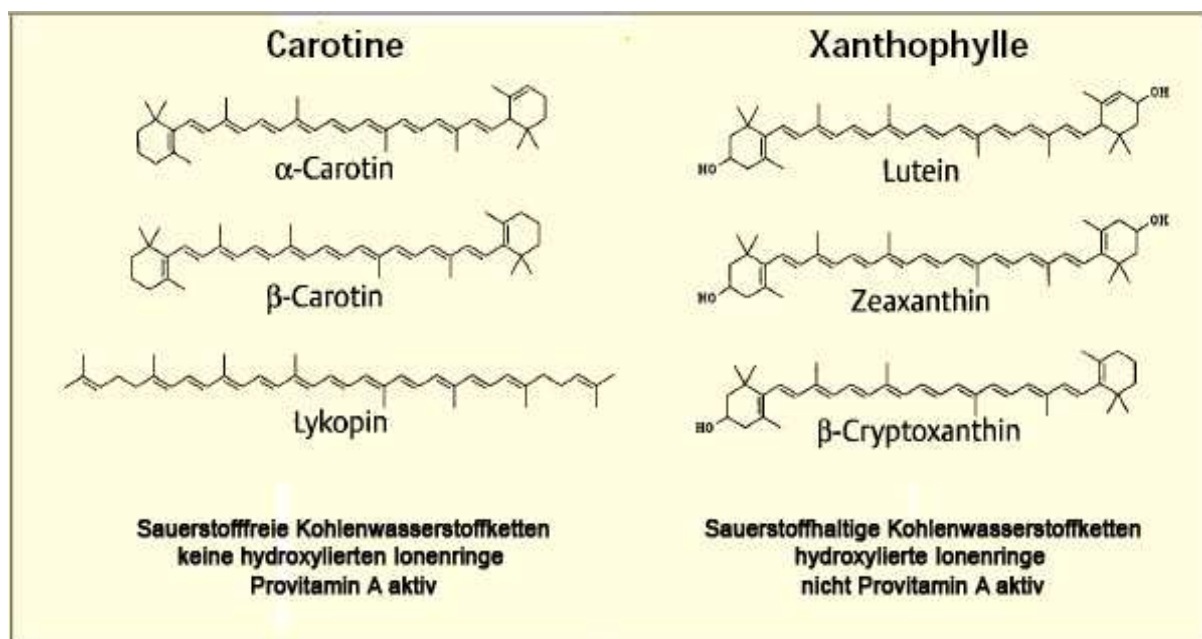


Abbildung 1: Übersicht der Carotine und Xanthophylle

Synthetisiert werden Carotinoide ausschließlich von Pflanzen (Bakterien, Algen und Pilzen) nicht aber von Primaten; diese sind auf eine Aufnahme der Carotinoide durch die Ernährung angewiesen. Carotinoide sind für alle photosynthetisierenden Pflanzen essentiell: sie fungieren als proteingebundene Pigmente bei der photosynthetischen Lichtabsorption und schützen zudem das Chlorophyll vor oxidativem Abbau.

In Bezug auf die wichtigsten Wirkungsweisen der Carotinoide ist auf die Provitamin A Aktivität hinzuweisen, auf eine unter bestimmten Bedingungen antikanzerogene Wirkung (VAINIO, 1998), eine positive Wirkung auf das Immunsystem (HUGHES, 1999 und WATZL, 2003) und eine antioxidative Wirkung. Daneben sind weitere positive Effekte auf die Zellkommunikationsstrukturen (durch Stimulation der Gap Junctions), den Schutz der DNA vor oxidativen Schäden und Regeneration der Maculafunktion nachgewiesen worden (WATZL, 2001 & ASTLEY ET AL, 2002). Weiterhin haben Carotinoide einen positiven Einfluss auf die Fruchtbarkeit (GOODWIN, 1986). Abschließend ist auf die farbgebende Funktion von Carotinoiden hinzuweisen, im Tierreich dienen die durch sie entstandenen Farben zur Werbung, zum Schutz und zur Abwehr. Die Farbgebung der Carotinoide liegt im Bereich von gelb, orange und rot. Diese wird durch Absorption bestimmter Anteile des sichtbaren Lichts durch die konjugierten Doppelbindungen bedingt.

2. 1.2. Beta- Carotin

Das in Nahrungsmitteln am weitesten verbreitete Carotinoid β - Carotin ($C_{40}H_{56}$) besteht aus acht Isopreneinheiten und zwei β - Iononringen. Ausgehend von der mittleren Doppelbindung ist β - Carotin völlig symmetrisch aufgebaut. Durch Spaltung im Organismus entstehen aus β - Carotin 2 Moleküle Retinol, was durch Dehydrogenase in Retinal (Vitamin A) umgewandelt wird (siehe Abbildung 1). β - Carotin weist im Körper die größte Provitamin A Aktivität auf (WATZL ET AL, 2001).

Als Carotinoid ist β - Carotin relativ hitzestabil, in Wasser unlöslich und in apolaren Lösungsmitteln löslich. Das Molekulargewicht beträgt 536,9 g/mol (BIESALSKI, 1997).

Durch zahlreiche Doppelbindungen existieren theoretisch 272 Isomere von β - Carotin, normalerweise liegt β - Carotin in der all- trans Konfiguration vor. Diese kann durch endogene Stoffwechselprozesse sowie Lebensmittelverarbeitungsprozesse umgewandelt werden. Die all- trans Konfiguration von β - Carotin kann als relativ stabil angesehen werden, selbst bei Erhitzung bis 100 °C und bei Metabolisierung im Magen bleibt das all- trans Isomer von β - Carotin bestehen. Erst ab Erhitzung über 130 °C ist eine signifikante Verschiebung zu den Cis- Isomeren nachzuweisen (WALZ, 2004).

2.1.3. Lutein

Das zu den Xanthophyllen gehörende Carotinoid Lutein ($C_{40}H_{56}O_2$) besteht ebenfalls aus acht Isopreneinheiten, weist aber zwei hydroxylierte Ionenringe auf (siehe Abbildung 1).

Lutein ist nicht hitzestabil, in Wasser unlöslich, in apolaren Lösungsmitteln löslich. Das Molekulargewicht beträgt 568,88 g/mol (SCHREIER, 2002).

In Struktur und Reaktion dem Zeaxanthin sehr ähnlich, werden Lutein und Zeaxanthin in der Literatur oft zusammengefasst. Bevorzugt liegt auch Lutein als all- trans Isomer vor, eine Erhitzung auf 75 °C führt allerdings schon zur Instabilisierung: das all- trans Isomer wandelt sich in cis- Isomere um oder wird völlig zerstört. Das gilt ebenso für Zeaxanthin (BEHSNILIA ET AL, 2004).

2.1.4. Lycopin

Lycopin ($C_{40}H_{56}$) ist ein Carotinoid, das keinen Ionenring aufweist. Das Molekulargewicht beträgt 536,88 g/ mol. Mit 13 Doppelbindungen, von denen 11 Doppelbindungen konjugiert sind, liegt Lycopin bevorzugt in der all- trans Konfiguration vor (5-cis, 9-cis, 13-cis und 15-cis Lycopin sind ebenfalls bedeutende Konfigurationen von Lycopin).

Im Rahmen von thermischen Verarbeitungsverfahren des sehr hitzestabilen Lycopins ist es gelungen, die Konfiguration von Lycopin von all-trans zu den cis- Isomeren zu verschieben (BEHSNILIAN ET AL, 2004).

Da Lycopin keine Ionenringe aufweist, hat es auch keine Provitamin A Aktivität. In der Literatur existieren allerdings viele Studien, die Lycopin besonders positive Eigenschaften zuordnen (LADEMAN ET AL, 2005, STAHL ET AL, 1996).

Daraus folgend sollte abschließend festgehalten werden, dass Lycopin das Carotinoid mit dem höchsten antioxidativen Potential ist (siehe Kapitel 2.1.5.2.).

2.1.5. Antioxidativer Wirkungsmechanismus

Antioxidantien sind Stoffe, die im Organismus vor unerwünschtem oxidativem Abbau schützen. Carotinoide sind eine bedeutende Gruppe der Antioxidantien, wobei hier besonders auf β - Carotin und Lycopin hinzuweisen ist (EDGE ET AL, 1997). Die hohe antioxidative Aktivität von Carotinoiden ist auf ihre zahlreichen konjugierten Doppelbindungen zurückzuführen.

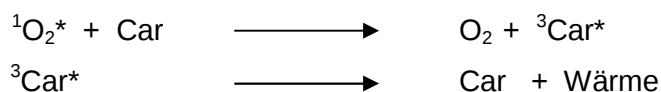
2.1.5.1. *Reaktive Sauerstoffspezies und oxidativer Stress*

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) sind Atome oder Moleküle, die ein oder mehrere ungepaarte/ freie Elektronen besitzen, wodurch sie instabile, kurzlebige und hochreaktive Verbindungen darstellen, die mit fast allen Biomolekülen reagieren können, um Elektronen zu gewinnen. Hierdurch können unkontrollierbare Kettenreaktionen entstehen und Moleküle in ihrer Funktion verändert werden. Zu den ROS gehören der bei der Photosynthese und auch durch Ozonbestrahlung gebildete Singulett Sauerstoff ($^1\text{O}_2$), die durch diverse Stoffwechselprozesse gebildeten freien Radikale (Superoxidation, Wasserstoffperoxid, Hydroxylradikal) sowie die Peroxylradikale. Sie haben die Fähigkeit die DNA zu spalten, Lipide zu peroxidieren, Enzymaktivitäten zu verändern, Polysaccharide zu depolymerisieren, Proteine zu deaktivieren und Zellen abzutöten (PALOZZA, KRINSKY, 1992).

Ein Gleichgewicht zwischen prooxidativen und antioxidativen Stoffen ist daher von Bedeutung. Verschiebt sich das Gleichgewicht zu den prooxidativen Stoffen, spricht man von oxidativem Stress.

2.1.5.2. *Reaktionsmechanismus von Carotinoiden*

Carotinoide sind durch die zahlreichen konjugierten Doppelbindungen in ihrer Struktur so stabil, dass sie mit ROS reagieren können, diese neutralisieren und selbst stabil bleiben. Bei der Reaktion mit Singulett Sauerstoff gehen Carotinoide in einen angeregten Triplett Zustand über, können ihren Grundzustand aber wieder durch die Abgabe von Energie/ Wärme erreichen (SUNDQUIST ET AL, 1994).



Bedeutend für die Fähigkeit der Neutralisierung von Singulett Sauerstoff (Quenching-Prozess) ist die Anzahl der konjugierten Doppelbindungen, womit Lycopin der effektivste Sauerstoff Quencher (siehe Abbildung 2) ist (STAHL & SIES, 1996).

Antioxidative und biochemische Eigenschaften von Lycopin und β - Carotin		
	Lycopin	β - Carotin
konjugierte Doppelbindungen	11	9
antioxidative Aktivität		
Singlet oxygen quenching	17×10^9	13×10^9
Radical scavenging	2.9	1.9
Reaction of carotenoid radical anions	2×10^8	25×10^8
biologische Aktivität		
Induction of gap junctional communication	++	++++
Growth inhibition of chemically transformed cells	+	++++
Suppression of cell proliferation	++++	++
Provitamin A activity	–	+++

Abbildung 2: Antioxidative Aktivität von Lycopin im Vergleich zu β - Carotin (STAHL UND SIES, 1996)

KRINSKY und PALOZZA haben allerdings festgestellt, dass die antioxidative Aktivität von Carotinoiden stark von äußeren Einflüssen abhängt. Die antioxidative Wirkung von β - Carotin zum Beispiel hängt vom Sauerstoffgehalt ab. Je größer dieser ist bzw. je stärker das System unter Druck steht, desto weniger wirkt β - Carotin antioxidativ sondern verhält sich dagegen prooxidativ (KRINSKY, PALOZZA, 1992).

Eine weitere bedeutende Determinante der antioxidativen Wirkung von Carotinoiden ist die Konzentration. Im Rahmen mehrerer in vitro Versuche konnte eine Umkehrung der antioxidativen Wirkung zu einer prooxidativen Wirkung bei einer Erhöhung der Konzentration der Carotinoide (hier: Lycopin und β - Carotin) nachgewiesen werden (KRINSKY, 2001 und KRINSKY, 2005). Zusammenfassend ist daher zum Reaktionsmechanismus von Carotinoiden festzuhalten, dass Carotinoide, im Besonderen β - Carotin und Lycopin, sehr effektive Radikalfänger darstellen. Ihre Wirkungsweise allerdings stark von externen Faktoren abhängt, die sich je nach Ausprägung die Wirkung der Carotinoide sogar umkehren können. Deutlich geworden ist: das universelle Antioxidans existiert nicht. Einzelsubstanzen müssen immer im Verbund mit einer Vielzahl anderer Antioxidantien betrachtet werden. Interaktionen, Konzentrationen, wie auch Synergien zwischen den Einzelsubstanzen sind zu berücksichtigen und können Art und Intensität der Wirkung verändern, abschwächen oder verstärken (JUNGHANS ET AL, 2000).

2.1.5.3. Bedeutung von Antioxidantien

In der Humanmedizin und Ernährung ist wiederholt die antikarzinogene Wirkung von Antioxidantien nachgewiesen worden (RAO ET AL, 2000 und GIOVANNUCCI, 1999). Weitere

Studien weisen eine positive Korrelation zwischen dem Konsum von Antioxidantien in Form von Carotinoiden und einem verringerten Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen nach (RISSANEN ET AL, 2000). Für die Xanthophylle Lutein und Zeaxanthin ist im Rahmen ihrer antioxidativen Wirkung ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten Konzentration der o.g. Xanthophylle im Plasma und einem verminderten Risiko an AMD (Altersbedingte Makuladegeneration) sowie Katarakt (Grauer Star) zu erkranken, nachgewiesen worden (OLMEDILLA ET AL, 2001). Ein weiterer bedeutender Forschungsbereich hat den Schutz von Antioxidantien vor Zerstörung der DNA der Haut nach ultravioletter Strahlung nachgewiesen. Eine Carotinoid- angereicherte Ernährung schützt die Haut vor UV- induzierten Schäden wie Erhöhung der Peroxylradikale, Zerstörung der DNA, Empfindlichkeit gegenüber Sonneneinstrahlung. Nach Anreicherung von Carotinoiden durch die Ernährung werden bedeutende Parameter der Hautabwehr gegen UV- induzierte Schäden gestärkt. Diese photo- protektiven Verbesserungen durch Antioxidantien schützen vor oxidativer DNA- Zerstörung und beugen so Hautalterung (LADEMANN ET AL, 2005) und Hautkrebs vor (CÉSARINI ET AL, 2003 und ASTLEY ET AL 2002). Die in Kapitel 2.1.5.2. erwähnte inverse Wirkung von Carotinoiden als Prooxidantien (Konzentrations- und Druck- abhängig) ist im Rahmen der Bedeutung von Antioxidantien wiederholt aufzugreifen, da eine erhöhte Aufnahme von Antioxidantien über die Ernährung unter bestimmten Umständen ebenso karzinogen wirken kann. Anzuführen sind hier die CARET- Studie sowie die ATBC- Studie, in denen ein erhöhtes Lungenkrebsrisiko und eine erhöhte Mortalität bei angereicherter Gabe von Antioxidanten (β - Carotin) an Raucher ermittelt wurde. Die Inzidenz von Lungenkrebsfällen [Mortalität], der mit β - Carotin ernährten Probanden war in der CARET- Studie um 18% [17 %] höher und in der ATBC- Studie um 28 % [26 %] höher als in der Kontrollgruppe. Die Studien mit dem ursprünglichen Ziel, eine geringere Lungenkrebsinzidenz von Risikopopulationen (Raucher) durch eine mit β - Carotin angereicherte Ernährung nachzuweisen, mussten vor ihrem Abschluss abgebrochen werden (OMENN ET AL 1996 und ATBC- CANCER PREVENTION STUDY GROUP, 1994). Zur Bedeutung der Antioxidantien in der Humanernährung sind abschließend die positiven Wirkungen hervorzuheben, festzuhalten bleibt allerdings auch, dass antioxidative und prooxidative Eigenschaften der Carotinoide eng nebeneinander liegen, was ein künstliches, systemisches Eingreifen in das komplexe antioxidative System riskant und unvorhersehbar werden lässt.

Im landwirtschaftlichen Bereich werden Antioxidantien als natürlicher Konservierungsstoff von der Futtermittelindustrie in einigen Futtermitteln zum Schutz

gegen oxidative Veränderungen von Futterfettsäuren eingesetzt. Allerdings werden hier eher Vitamin E, C und Tocopherole und andere natürliche antioxidative Stoffe eingesetzt, Carotinoide spielen eine untergeordnete Rolle (KIRCHGÄSSNER, 1997).

Daneben werden Antioxidantien auch in der Lebensmitteltechnologie als Konservierungsmittel eingesetzt. Es existieren bereits Untersuchungen, die die Wirksamkeit von Antioxidantien im Eigelb als natürliche Konservierungsmittel bei der Herstellung von Rindfleisch- und Thunfisch- Homogenisaten bestätigt haben (SAKANAKA, 2006).

2.2. Raman- spektroskopische Grundlagen

Der der Raman- Spektroskopie zu Grunde liegende Effekt wurde 1928 von dem indischen Physiker C.V. Raman (1888- 1970, Nobelpreis 1930) entdeckt. Bis zur Einführung moderner Komponenten wie Laser, Verstärker sowie EDV- gestützter Auswertungsverfahren war die Aufnahme und Auswertung von Raman- Spektren kompliziert und daher wenig verbreitet. Im Rahmen der Analyse und quantitativen Bestimmung von Carotinoiden in der Humanmedizin (Plasma- und Gewebeproben) und in der Lebensmitteltechnologie nimmt die „high performance liquid chromatography“- HPLC bisher den bedeutenderen Anteil ein.

2.2.1. Herkömmliche Methodik zur Bestimmung von Carotinoiden: HPLC

Die „high performance liquid chromatography“- HPLC- Methode wird je nach Fragestellung sowie den zu untersuchenden Substanzen modifiziert. RODRIGUEZ- AMAYA hat folgende HPLC- Methoden zur Analyse von Carotinoiden in Lebensmitteln befürwortet (RODRIGUEZ- AMAYA, 2001):

- HPLC-Method of Bushway et al (zur Bestimmung von Provitamin A- aktiven Carotinoiden)
- HPLC- Method of Heinonen et al (zur Bestimmung von β - Carotin, Lycopin, Lutein- am weitesten verbreitete Methode zur Carotinoid- Analyse in Europa)
- HPLC- Method of Hart and Scott (zur Bestimmung von alpha-, beta- Carotin, Lycopin, Lutein/ Zeaxanthin, β - Cryptoxanthin, entwickelt in England)

-
- HPLC- Method of Khachik et al (zur Bestimmung aller Carotinoide in Lebensmitteln, entwickelt und angewendet in den USA).

Problematisch in Bezug auf die Anwendung der HPLC- Methodik im medizinischen Bereich ist die Tatsache, dass es sich bei der Probenentnahme stets um einen invasiven Prozess handelt. Weitere Nachteile der HPLC- Methoden, die sich auch auf den Bereich der Lebensmitteltechnologie auswirken: die Bestimmung von Carotinoiden mittels HPLC ist sehr zeitaufwendig und einem komplexen Versuchsaufbau unterlegen, dies gilt ebenso für die verwendeten Proben und die Probenbeschaffenheit. Lichtempfindlichkeit und Kostenintensität sind weitere Eigenschaften, die sich nachteilig auf die Anwendung von HPLC- Methoden auswirken (CRAFT, 1992 und RODRIGUEZ- AMAYA, 2001).

2.2.2. Physikalische Grundlagen der Raman- Spektroskopie

Die Raman- Spektroskopie liefert vergleichbar mit der Infrarot- Spektroskopie Informationen über die Schwingungs- und Rotationszustände von den bestrahlten Molekülen. Der zugrundeliegende physikalische Effekt ist der sogenannte Raman- Effekt, der durch Wechselwirkung von elektromagnetischer Strahlung und der Elektronenhülle der Moleküle entsteht. Im Gegensatz zur IR- Spektroskopie ist der Raman- Effekt unabhängig von der Wellenlänge der Erregerstrahlung.

Zur Anregung wird die Probe mit intensivem monochromatischem Licht (grüne und blaue Spektralfarbe) bestrahlt. Der größte Teil der monochromatischen Laserstrahlung durchstrahlt die Probe (> 99 %). Ein sehr kleiner Anteil der Strahlung wird von der Probe gestreut, dabei handelt es sich um eine elastische Streuung der Photonen an den Molekülen, welche die gleiche Frequenz (elastisch) besitzt wie die eingestrahlte Laserstrahlung (Rayleigh- Streuung). Der geringste Teil der Laserstrahlung (10^{-6} %) wird unelastisch gestreut, dabei handelt es sich um die sogenannte Raman- Streuung, die aufgrund der unelastischen Strahlung eine Differenz im Energieniveau aufweist (die Energie die dabei abgegeben oder aufgenommen wird, entspricht der Differenz zwischen zwei Energieniveaus einer Molekülschwingung) (SPIEB, 1999).

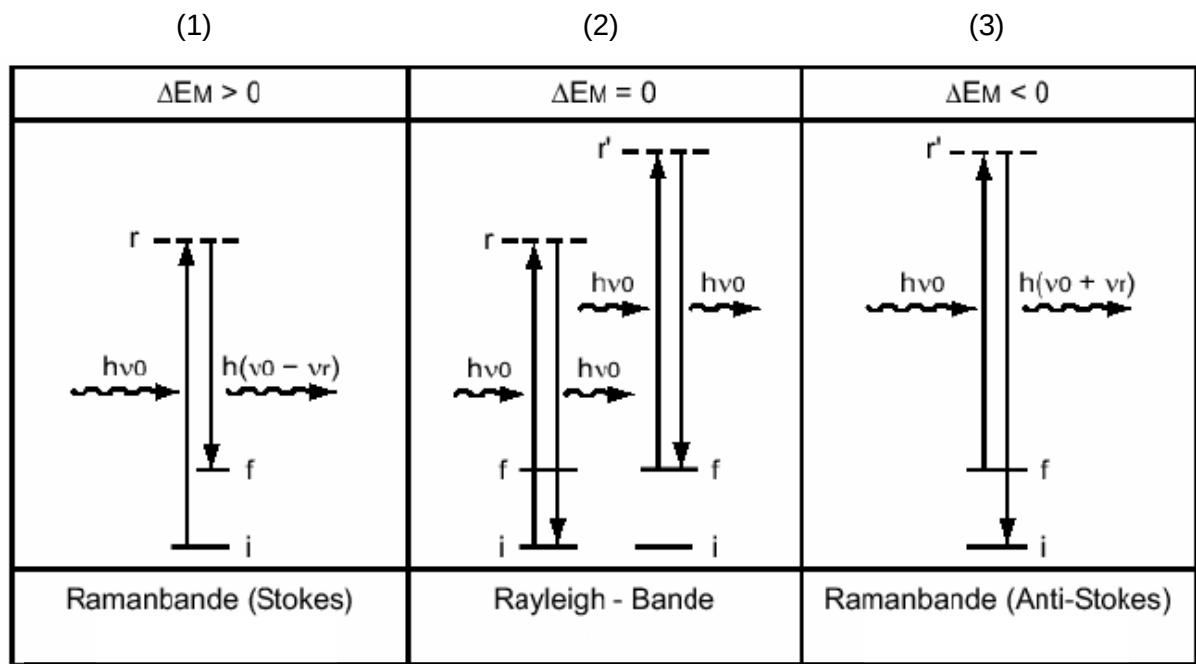


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Prozesse Raman- und Rayleigh- Streuung (VORTISCH, 2002)

Der in Abbildung 3 dargestellte (1) Bereich stellt die Raman- Streuung dar. Die durch die Photonen der Laserstrahlung ($h\nu_0$) angeregte Probe geht vom Grundzustand i in einen angeregten Zustand r (gestrichelte Linie) über. Die angeregte Probe emittiert Photonen und geht dabei in einen energetischen Endzustand f über, der etwas über dem Ausgangszustand i liegt (bei der Rayleigh Streuung (2) geht die Probe dabei wieder in den energetischen Ausgangszustand i über). Der Rest der Energie ist der Betrag, den die Molekülgruppen zu der mechanischen Schwingungsanregung benötigen. Die wieder abgestrahlten Photonen haben daher eine längere Wellenlänge $h(\nu_0 - \nu_r)$ (Stokes-Streuung). Andererseits können z.B. thermisch angeregte Moleküle (Bereich (3), Ausgangszustand f) zusätzlich die Schwingungsenergie an die emittierten Photonen abgeben $h(\nu_0 + \nu_r)$, die somit mit kürzeren Wellenlängen emittiert werden und die Moleküle/ Probe wieder in den energetischen Ausgangszustand i bringen (Anti- Stokes-Streuung) (SPIEB, 1999).

Diese- aus der Stokes und Anti Stokes Streuung resultierenden- Frequenzunterschiede werden in Wellenzahlen relativ zur Laserfrequenz, dem sogenannten Raman- Shift (die Wellenzahl des Lasers wird dabei gleich null gesetzt) angegeben. Da Stokes und Anti Stokes den gleichen Raman- Shift nur mit umgekehrtem Vorzeichen haben, wird im Folgenden nur die Stokes Streuung dargestellt. Abbildung 4 zeigt die Stokes Streuung

der Haut nach Abzug des Fluoreszenzuntergrundes. Dabei ist anzumerken, dass Bindungen oder Moleküle

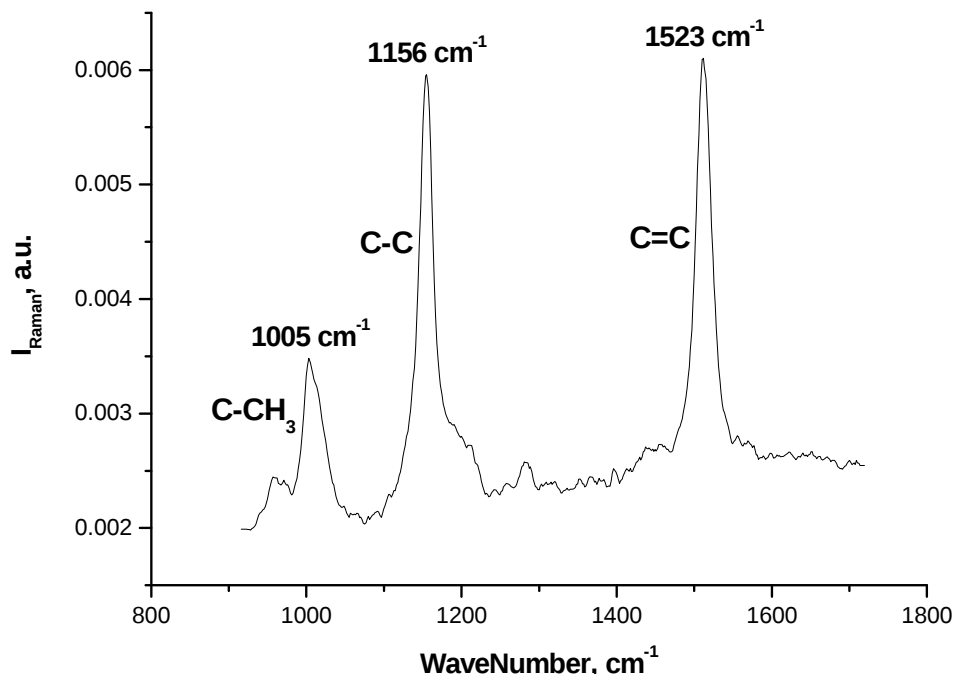


Abbildung 4: Raman- Spektrum der Haut nach Abzug des Untergrundes unter Anregung durch Argon- Laser bei 514,5 nm (DARVIN ET AL, 2003)

mit leicht deformierbaren Elektronenhüllen (z.B. $\text{C}=\text{C}$ oder $\text{C}-\text{C}$ - Bindungen) stark Raman aktiv sind. So gehen die beiden auffälligen Stoke- Streuungen/ Raman- Banden aus Abbildung 4 bei einer Wellenlänge von 1156 cm^{-1} und 1523 cm^{-1} aus einfachen sowie doppelten Kohlenstoffbindungen hervor (DARVIN ET AL, 2003). Die Intensität der je nach Stoffzusammensetzung variierenden Raman- Banden, wird für die Auswertung der Konzentration der Carotinoide herangezogen. Es kann festgehalten werden, dass die Raman- Spektroskopie für die Analyse von Carotinoiden gut geeignet ist, da Carotinoide durch ihre zahlreichen Kohlenstoffdoppel- und -einzelbindungen sehr Raman aktiv sind.

2.2.3. Absorptionsspektren der Carotinoide

Die in Abbildung 5 aufgeführten Absorptionsspektren von β - Carotin und Lutein/ Zeaxanthin (—) sowie Lycopin (----) weisen bei einer Anregung von 488 nm bzw. 514,5 nm jeweils differierende Absorptionswerte auf. Die Anregung mit einer Laserstrahlung bei 488 nm wird sowohl von β - Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin als auch von Lycopin absorbiert. Bei einer Anregung von 514,5 nm existieren signifikante Absorptionsunterschiede: die

Absorption von Lycopin ist wesentlich höher als die von β - Carotin. Daraus resultiert, dass die Raman- Banden für β - Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin bei einer Anregung von 488 nm und 514,5 nm unterschiedliche Streuungen aufweisen. Diese Absorptionsunterschiede werden im Zuge der (Raman-) Signalauswertung genutzt, um zwischen den Konzentrationen der o.g. Carotinoide zu unterscheiden (DARVIN ET AL, 2006).

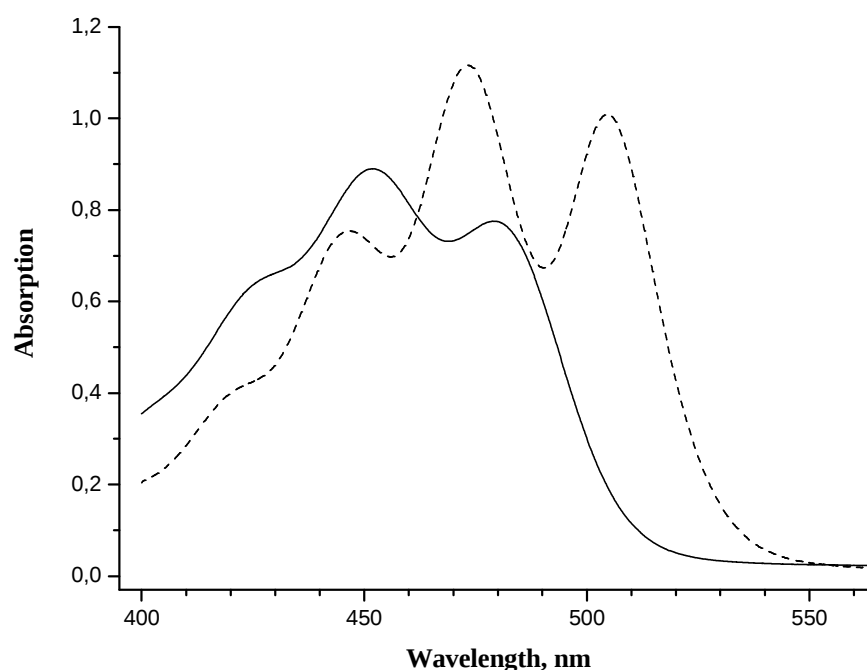


Abbildung 5: Absorptionsspektrum von β - Carotin (—) und Lycopin (----) in Ethanol (DARVIN ET AL 2006)

2.2.4. Aufbau eines Raman- Spektroskops

Die Anregung der Probe (*) erfolgt durch einen intensiven monochromatischen Laserstrahl (hier: Argon- Laser). Die Strahlung wird durch eine optische Quarzfaser einem Handstück zugeleitet. Mit Hilfe eines optischen Abbildungssystems werden die Anregungswellenlängen auf die Probe projiziert. Die entstehende Raman- Strahlung wird durch ein zweites optisches Abbildungssystem erfasst und durch eine Quarzfaser in ein Spektrometer geführt. Da die entstehende Rayleigh Streuung wesentlich stärker als die Raman Streuung ist, wird diese im Handstück durch optische Filter entfernt. Die Signalabbildung und –auswertung mit Hilfe des Spektroskops, einer CCD- Kamera und einer speziellen Software ist methodenabhängig und soll daher in Kapitel 3 Material und Methodik detailliert aufgezeigt werden. Abbildung 6 skizziert den schematischen Aufbau eines Raman- Spektrometers (ERMAKOV ET AL, 2004).

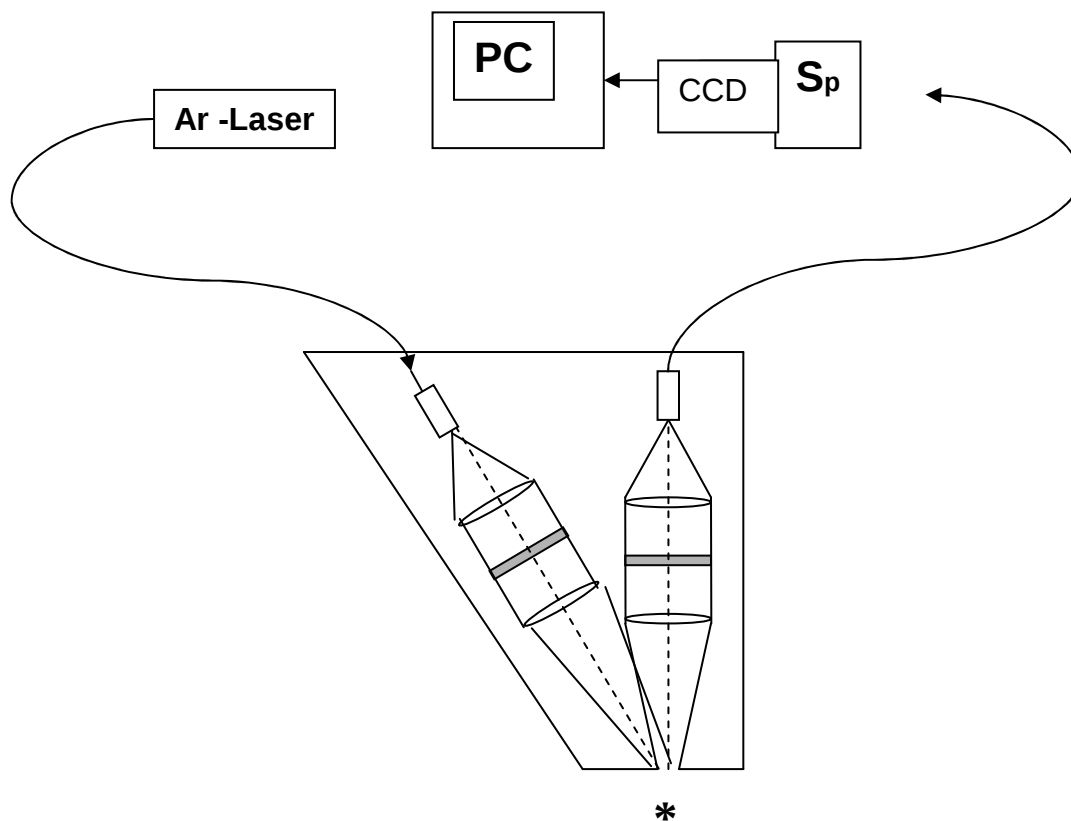


Abbildung 6: Schematischer Aufbau eines Raman- Spektrometers (ERMAKOV ET AL, 2004)

2.2.5. Einsatz der Raman- Spektroskopie und Probenbeschaffenheit

Durch den Einsatz von Raman- spektroskopischen Methoden können Proben aller Aggregatzustände untersucht werden. In der Humanmedizin ist der Einsatz der Raman- Spektroskopie durch deutliche technische Weiterentwicklung nun auch in vivo möglich (WARTEWIG, 2005) und wird als nichtinvasive, schnelle und selektive Nachweismethode in „in vivo- Studien“ erfolgreich eingesetzt (DARVIN ET AL, 2005).

Diese deutlichen Vorteile lassen die Raman- Spektroskopie zur einer interessanten analytischen Alternative in verschiedenen Bereichen der Lebensmitteltechnologie werden. So haben MARQUARDT und WOLD die Raman- Spektroskopie als Analysemethode im Rahmen einer schnellen, sowie „nichtinvasiven“ Qualitätskontrolle

von Fisch (Lachs) erfolgreich eingesetzt. Detaillierte Informationen über den Gehalt und die Zusammensetzung der Fette, Kollagene und Pigmente in den Fischmuskeln konnten erhoben werden (MARQUART ET AL, 2003).

In Bezug auf die Probenbeschaffenheit ist anzumerken, dass Raman- spektroskopische Methoden für temperatur- und luftempfindliche Proben den Vorteil bieten, die Proben direkt im Reaktionsgefäß messen zu können. Es können farbige Substanzen sowie wässrige Lösungen (geringe Raman- Aktivität von Wasser) gemessen werden. Ebenso ist eine Analyse von gefrorenen und erhitzten Proben problemlos möglich (SPIEB, 1999).

Abschließend ist festzuhalten, dass die unkomplizierte Probenvorbereitung neben einer Ergebniserzeugung in Sekunden Vorteile sind, die die Raman- Spektroskopie zu einem vielversprechenden Analyseelement machen.

2.3. Bedeutung von Carotinoiden in Lebensmitteln

Carotinoide befinden sich überwiegend in orange- gelb- rotem Gemüse und Obst, die Untergruppe der Xanthophylle hauptsächlich in grünblättrigem Gemüse. Wobei insgesamt der Carotinoidgehalt von Gemüse sehr viel höher als der von Obst ist (etwa um den Faktor 10) (AUGUSTINE, 1992, WATZL, 2001).

2.3.1. Produktgruppen

Tomaten und Tomatenprodukte sind die wichtigsten Lycopinquellen, Blattsalate und Blattgemüse die wichtigsten Luteinlieferanten und β - Carotin wird hauptsächlich durch Karotten aufgenommen. Tabelle 1 gibt die μg - Gehalte (pro 100g) von β - Carotin, Lycopin und Lutein in verschiedenen Obst- und Gemüsesorten wieder.

Tabelle 1: Wichtige Quellen für β - Carotin, Lycopin und Lutein (PELZ, 1998)

	β- Carotin [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]	Lycopin [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]	Lutein [$\mu\text{g}/100\text{ g}$]
Kiwi	43	0	140
Grünkohl	5170	-	18630
Brokkoli	846	0	800
Kopfsalat	1440	0	2920
Karotte	7790	0	560
Paprika (grün)	535	0	410
Spinat	4690	0	9540
Tomate	506	3100	140

Vergleicht man verschiedene Angaben aus der Literatur, so ist zu beachten, dass die Angaben über die Gehalte an Carotinoiden erheblich schwanken können. Die Differenzen resultieren aus der Analyse von unterschiedlichen Sorten mit unterschiedlichen Reifegraden, Lagerungsdauer und Klimabedingungen. Daneben sind Differenzen resultierend aus verschiedenen analytischen Methoden- sowie Weiterentwicklung der Methoden nicht zu vernachlässigen.

Am Beispiel des Lycopin- Gehalts von Tomaten (siehe Tabelle 2) soll aufgezeigt werden, dass der Verarbeitungsgrad von Gemüse eine sehr bedeutende Determinante für den Gehalt an Carotinoiden darstellt. So weisen Tomatensaft und –soße einen mehr als doppelt so hohen Gehalt an Lycopin auf als rohe Tomaten. Durch Erhitzen werden die Bindungen des hitzebeständigen Lycopins zu Proteinen gespalten, kristalline Carotinoid-Aggregate gelöst und Zellverbände zerstört. Lycopin wird dadurch besser bioverfügbar. Es existieren mehrere Studien zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Carotinoiden durch geeignete Verarbeitungsverfahren (Tomaten: STAHL ET AL, 1996, Möhren: BEHSNILIAN ET AL, 2004, Kartoffeln: BEHSNILIAN ET AL, 2004 b).

Tabelle 2: Lycopin Gehalt von Tomaten und einigen Obstsorten (STAHL ET AL 1996)

	Lycopin	
	nmol/ g wet wt	$\mu\text{g}/100\text{ g wet wt}$
Tomate (roh)	58	3100
Tomatensaft	161	8600
Tomatensoße	120	6300
Hagebutte	15	780
Wassermelone	77	4100
Guave (pink)	100	5200
Grapefrucht (pink)	7	350

Neben den Hauptlieferanten von Carotinoiden (Gemüse) kommen geringere Mengen ebenfalls in einigen Obstsorten (Bananen, Mango, Blaubeeren, Papaya) und pflanzlichen Ölen vor (AUGUSTINE, 1992).

Eier bzw. das Eigelb wird in der Literatur nur am Rande als möglicher Lieferant von Lutein aufgeführt. HANDELMAN ET AL haben nach einer einmonatigen Diät von 1,3 Eigelb pro Tag einen signifikanten Anstieg von Lutein (ca. 28 %) und Zeaxanthin im Plasma festgestellt (HANDELMAN ET AL 1999). Betrachtet man Inhaltsstoffe (Proteine und Lipide) des Eigelbs, so liegt die Annahme nahe, dass Eier/ Eigelb eine höchst bioverfügbare Ressource von Carotinoiden sind. SURAI ET AL haben dazu im Rahmen einer „functional food“- Studie von Eiern eine künstliche Anreicherung von Eiern mit Lutein vorgeschlagen. Im Vorfeld wurde in Untersuchungen entdeckt, dass Eier von Hühnern aus kommerzieller landwirtschaftlicher Haltung sehr viel weniger Lutein beinhalten, als Eier von Wildvögeln (SURAI, 2001). Diese sogenannten „designer eggs“ sollen dann den Bedarf an Lutein decken.

CHUNG ET AL haben nachgewiesen, dass der Plasmagehalt von Lutein nach Verzehr von Eiern nach 2, 3 und 10 Tagen am höchsten steigt. Dem gegenüber steht ein geringerer Anstieg beim Verzehr der gleichen Mengen Lutein in Form von Spinat und systemischer Gabe von Lutein (CHUNG ET AL, 2004).

2.3.2. Versorgung mit Carotinoiden

In Deutschland liegt die mittlere Carotinoid- Zufuhr pro Tag bei 5,3 mg. PELZ ET AL haben ausgehend von der Datengrundlage der „Nationalen Verzehrsstudie“ eine Abschätzung der Aufnahme an Carotinoiden pro Tag erstellt: es werden durchschnittlich 1,81 mg β -Carotin, 1,91 mg Lutein und 1,28 mg Lycopin aufgenommen (die Aufnahme aller anderen Carotinoide liegt deutlich hinter den genannten zurück). Gemüseprodukte liefern dabei 84 % und Obst 4 % des aufgenommenen β - Carotins. Die Tagesaufnahme von Lycopin wird zu 90 % durch Tomaten- und Tomatenprodukte gedeckt (PELZ ET AL, 1998). Daraus wird deutlich, dass Aufnahme und Zusammensetzung der Carotinoidzufuhr stark mit den allgemeinen Verzehrsgewohnheiten korrelieren. Tabelle 3 gibt die Plasmakonzentrationen von einzelnen Carotinoiden wieder.

Tabelle 3: Plasmakonzentrationen ausgewählter Carotinoide; Mittelwerte aus verschiedenen Studien (STAHL ET AL 1996)

Carotinoid Plasmagehalt (nmol/ ml)					
Lutein/ Zeaxanthin	β- Cryptoxanthin	Lycopin	α- Carotin	β- Carotin	Summe Carotinoide
0,33	0,21	0,47	0,08	0,33	1,41

Für die deutsche Bevölkerung ist mit Abweichungen von den aufgeführten Werten (Tabelle 3) zu rechnen. β- Carotin erreicht beispielsweise deutlich höhere Werte, Lycopin dagegen niedrigere Werte. Die Werte aus der o.g. Tabelle stammen aus amerikanischen und italienischen Studien, so dass zu beachten ist, dass Tomatenprodukte (siehe Lycopinwerte) in diesen Bevölkerungsgruppen eine eventuell größere Bedeutung genießen als in Deutschland (SCHREIER, 2002).

2.3.3. Das Ei als Lebensmittel und Carotinoidnährstoffträger

Die im Rahmen der Cholesterin- Problematik in Verruf geratenen Eier sind generell gute und effektive Nährstofflieferanten. Bezogen auf den Gehalt an Kalorien ist das Ei das Lebensmittel, welches mit dem niedrigsten Gehalt an Kalorien/ Energie am meisten Nährstoffe in Form von Proteinen, Vitaminen und Mineralstoffen liefert (MC NAMARA, 1999). Die hohe Nährstoffdichte wird bei Betrachtung der originären Funktion des Eies verständlich: über eine Entwicklung von 21 Tagen liefert das Eigelb sämtliche Nährstoffe zur Entwicklung des Hühnerembryos. Nicht zufällig schließen KOVACS- NOLAN ET AL ihren Review über die Auswirkungen von Eiern auf die menschliche Gesundheit mit folgendem Gedanken ab: Neben der Versorgung mit allen grundlegenden Ernährungsbestandteilen, beinhalten Eier zahlreiche Substanzen, mit potentiellen sowie bereits nachgewiesenen medizinisch- therapeutischen Effekten, die sie zu einer Quelle von zahlreichen biologisch aktiven Komponenten für die Verbesserung der menschlichen Gesundheit machen (KOVACS- NOLAN ET AL, 2005).

Tabelle 4 gibt die Inhaltsstoffe des Ei/ Eigelbs an.

Tabelle 4: Inhaltstoffe eines (großen) Eies, bzw. Eigelb und Eiweiß (USDA, 2004)
 [geringe Differenzen zwischen dem Wert von Eigelb und Eiweiß gegenüber dem Wert für das gesamte Ei sind auf die Probenentnahme zurückzuführen]

Inhaltsstoffe 1 (großes) Ei frisch und roh			
Inhaltsstoff	ges. Ei	Eiweiß	Eigelb
Kalorien	74	17	55
Protein (g)	6,3	3,6	2,7
Carbohydrate (g)	0,4	0,24	0,61
Lipide ges. (g)	5	0,06	4,51
mehrfach ungesättigte Fettsäuren (g)	0,7	0	0,72
einfach ungesättigte Fettsäuren (g)	1,9	0	2
gesättigte Fettsäuren (g)	1,5	0	1,6
Cholesterin (mg)	212	0	210
Choline (mg)	125	0	125
Lutein/ Zeaxanthin (µg)	166	0	186
Vitamin A (IE)	244	0	245
Vitamin D (IE)	17,3	0	18,3
Vitamin E (mg)	0,5	0	0,44
Vitamin B 6 (mg)	0,07	0	0,06
Vitamin B 12 (µg)	0,64	0,03	0,33
Folsäure (µg)	24	1	25
Thiamin (mg)	0,03	0	0,03
Riboflavin (mg)	0,24	0,15	0,09
Calcium (mg)	27	2	22
Sodium (mg)	70	55	8
Phosphor (mg)	96	5	66
Magnesium (mg)	6	4	1
Eisen (mg)	0,9	0,03	0,46
Zink (mg)	0,6	0,01	0,39

Im Folgenden soll kurz die Zusammensetzung der Carotinoide vom- für die vorliegende Arbeit relevanten Eigelb- wiedergegeben werden.

Tabelle 5: Ausgewählte Carotinoide im Eigelb [µg/g Eigelb]

Carotinoide Quelle	Lutein	Zeaxanthin	beta-Cryptoxanthin	β- Carotin	Lycopin
HANDELMAN 1999	<13.9>	<10.1>	-----	<0.2>	0
USDA 2004	23.0 (7.1)		0.7 (0.2)	1.9 (0.6)	0
OLLILAINEN 1989	15.8		traces	-----	traces
JIANG ET AL 1994	-----	-----	-----	14	-----

Aus den Angaben in der Literatur (siehe Tabelle 5) wird deutlich, dass Lutein (Zeaxanthin) das vorherrschende Carotinoid im Eigelb ist. Zu beachten ist hier, dass die o.g. genannten Werte durch HPLC- Messungen erhoben wurden- und Eier von konventionellen Hühnern für diese Messungen herangezogen wurden. Vorweg gestellt wird hier die noch zu untersuchende Annahme, dass Eier von Hühnern aus ökologischer Freilandhaltung (mit Zugang zu frischem Grünfutter, siehe Kapitel 2.4.3.) deutlich mehr β - Carotin enthalten. Dies wird zunächst durch die Studien von SURAI ET AL bestätigt. Im Gegensatz zum konventionell gehaltenen Hausgeflügel konnte im Eigelb von Wildvögeln β - Carotin als signifikanter Anteil an den Gesamtcarotinoiden ermittelt werden. β - Carotin hatte einen Anteil von 25- 29 % an den Gesamtcarotinoiden von Wildvögeln (SURAI ET AL, 2000).

2.4. Landwirtschaftliche Legehennenhaltung und Eiererzeugung

Die Erzeugung von Eiern ist durch eine ausgesprochen hohe einzelbetriebliche und regionale Konzentration geprägt. Wenige, vertikal kooperierende Großunternehmen dominieren den Markt. Im Folgenden soll kurz die Eierproduktion/ Legehennenhaltung auf dem Weltmarkt skizziert werden, da Deutschland mit einem Legehennenbestand von 110 Millionen Legehennen verglichen mit dem Weltgesamtbestand von 16,6 Milliarden Legehennen einen verschwindend geringen Anteil (0,6 %) einnimmt (STATISCHTES BUNDESAMT, 2004).

Für den Hühnerbestand gilt, dass mehr als die Hälfte des Welthühnerbestandes in China (24%), USA (12%), Indonesien (8%), Brasilien (6%) und der EU (7%) gehalten wird. Die Eiererzeugung in der Welt ist in der ersten Hälfte der 90er Jahre deutlich gestiegen, weist momentan aber geringere Zuwächse auf. Aus Tabelle 6 wird ein Zuwachs von 59 % von 1990 bis 2003 ersichtlich, dabei nahm die Produktion von Eiern am deutlichsten in China (164 %) zu, während die Steigerung der Eiererzeugung im gleichen Zeitraum in der EU nur um 7 % angestiegen ist. Bedeutendste Akteure in der Welteierproduktion sind China (mit einem Anteil von 42%), USA (8,7%) und Japan (4%). Von der EU werden 9,6 % der Welteierproduktion abgedeckt (ZMP, 2004).

Tabelle 6: Eiererzeugung der Welt, der EU und Deutschlands (STATISCHTES BUNDESAMT, 2004 UND ZMP, 2004)

in Mrd. Stück	1990	1995	2001	2002	2003
Welt	628,0	735,1	942,4	976,6	1.000,5
China	158,9	232,9	380,2	400,2	419,0
USA	68,0	74,8	85,6	86,6	86,7
Japan	40,3	42,2	40,2	40,2	40,0
Russland	47,5	33,8	31,5	32,5	32,8
Thailand	.	7,7	12,8	12,9	12,9
EU-15	90,3	88,4	96,0	94,9	96,4
Spanien	11,6	11,0	14,2	14,3	19,4
Frankreich	14,6	16,9	16,9	16,4	16,5
Italien ¹⁾	10,2	11,1	14,3	13,6	13,5
V. Königreich	12,3	10,7	11,0	11,9	12,5
Niederlande	10,9	10,0	11,0	10,6	7,5
Belgien / Lux.	2,9	3,8	3,7	3,6	3,2
Griechenland	2,5	2,4	2,6	2,5	2,7
Portugal	1,7	1,9	2,2	2,2	2,1
Schweden	2,0	1,7	1,7	1,6	1,6
Österreich	1,7	1,7	1,4	1,5	1,4
Dänemark	1,4	1,5	1,3	1,3	1,3
Deutschland	16,6	13,7	14,1	13,9	13,1
1) ab 2000 neue Berechnung mit Vorjahren nicht vergleichbar					
2) in Betrieben ab 3.000 Legehennen					

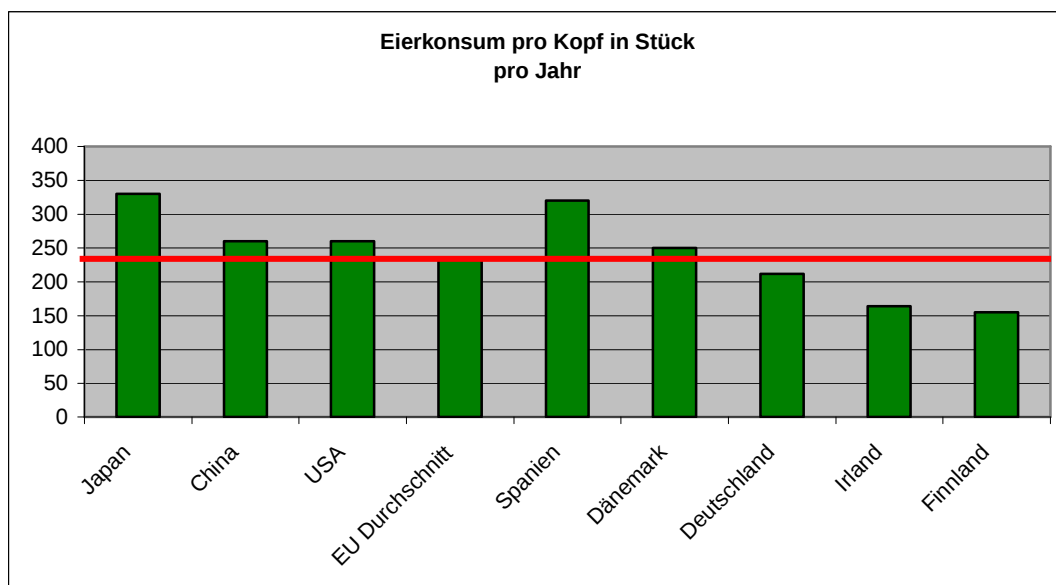


Abbildung 7: Eierkonsum in Stück 2003, pro Kopf und Jahr ausgewählter Staaten (STATISCHTES BUNDESAMT 2004 und ZMP, 2004)

Ungefähr parallel zum Anteil an der Welteierproduktion verhält sich die Verteilung des pro Kopf Verbrauches von Eiern pro Jahr. Absoluter Spitzenreiter ist Japan mit 330 Eiern pro Jahr/ pro Kopf. Gefolgt von Spanien mit 320 Eiern pro Kopf. China und die USA weisen einen durchschnittlichen pro Kopf Verbrauch von jeweils 260 Eiern auf. Deutschland liegt mit 212 Eiern unter dem EU- Durchschnitt (rote Linie in Abbildung 7) von 233 Eiern (ZMP, 2004). Für 2005 gilt: Mexiko 314, Japan 330, China 300, Frankreich 253 Eier pro Kopf und Jahr. (KALLHAMMER, 2006).

2.4.1. Einführender Überblick

Hühner zählen zu den Haustieren, die weltweit am weitesten verbreitet sind und am intensivsten genutzt werden. Die herausragende Bedeutung der Hühner ist auf ihre unkomplizierte Haltung, schnelle Vermehrbarkeit und auf den hohen ernährungsphysiologischen Wert ihrer Produkte zurückzuführen. Im 3. Jahrtausend v. Chr. ist in Südostasien aus dem Bankiva- Huhn (*Gallus gallus*) das heute gehaltene Haushuhn (*Gallus gallus domesticus*) gezüchtet worden. Das Bankiva- Huhn (rotes Dschungelhuhn) war nur in Ost- und Südasiens beheimatet. In Europa hat keine Domestikation stattgefunden, hierhin kam das Huhn bereits domestiziert als Haushuhn etwa im 6.-7. Jahrhundert vor Chr.. Das Bankiva- Huhn lebte bevorzugt in trockenen und feuchten Wäldern mit dichter Bodenvegetation (INSTITUT FÜR ÖKOLOGISCHE WIRTSCHAFTSFORSCHUNG ET AL, 2004).

Wirtschaftlich bedeutend für die Ernährung wurde die Hühnerhaltung erst kurz vor dem Mittelalter. Je nach Gebiet und Ansprüchen lag der Schwerpunkt der Nutzung entweder auf der Fleisch- oder auf der Eierproduktion. Hier liegt der Beginn der Aufspaltung der Hühnerrassen in verschiedene Hühnertypen mit unterschiedlichen Nutzungsrichtungen (INSTITUT FÜR ÖKOLOGISCHE WIRTSCHAFTSFORSCHUNG ET AL, 2004).

Mit steigender Bedeutung des Nahrungsmittellieferanten Huhn ist auch die Intensität der Nutzung kontinuierlich gestiegen. Die heute weltweit verbreitete Käfighaltung der Legehennen zur Eierproduktion ist eine der intensivsten landwirtschaftlichen Haltungsformen überhaupt. Diese Art der Hühnerhaltung wird von Politik und Öffentlichkeit intensiv und kontrovers diskutiert, da hier eine große Diskrepanz zwischen Wirtschaftlichkeit und tiergerechter Haltung einen Kompromiss schwer macht. Der Höhepunkt der Käfighaltung in Deutschland (in den 90er Jahren: 95%) scheint durch Einführung alternativer Haltungsformen sowie entsprechenden Gesetzgebungen überschritten und ist nach der aktuell gültigen Gesetzeslage ab 2007 nicht mehr zulässig. In der EU ist die Käfighaltung ab 2012 verboten (STATISTISCHES BUNDESAMT

2004). Im Rahmen der wachsenden Vogelgrippe- Problematik fordern viele Akteure landwirtschaftlicher Großbetriebe die Aufhebung des Verbotes der Käfighaltung, wobei momentan nicht abzusehen ist inwieweit die Käfighaltung aufgehoben, verlängert oder wieder (eventuell in modifizierter Form) wieder zulässig wird.

2.4.2. Konventionelle Legehennenhaltung

Im Rahmen der konventionellen Legehennenhaltung sind die Käfighaltung, die Bodenhaltung, die Volierenhaltung und die Freilandhaltung zu unterscheiden. Bei der **Käfighaltung** werden die Legehennen meist in Gruppen von vier bis fünf Tieren in Käfigen gehalten, die mit einem leicht schrägen Bodengitter ausgerüstet sind. Nach EU-Richtlinie muss ein Mindestplatzangebot von 550 cm² je Henne eingehalten werden. Die Käfige sind in Etagen übereinander angebracht. Bei der Käfighaltung sind das Füttern, das Sammeln der Eier und die Entmistung vollständig automatisiert. Die Anbringung der Käfige in Etagen ermöglicht eine maximale Ausnutzung des Stallraumes: Je nach Etagenzahl können mehr als 50 Hennen auf einem Quadratmeter gehalten werden.

Bei der **Bodenhaltung** werden die Legehennen meistens in großen Gruppen von hundert bis mehreren tausend Tieren gehalten. Nach EU-Vermarktungsordnung sind maximal 7 Hennen pro Quadratmeter zulässig. Die Stallfläche ist in der Regel in eine eingestreute Scharrfläche und eine Gitterfläche mit darunter liegender Kotgrube eingeteilt. Die Scharrfläche muss mindestens ein Drittel der Bodenfläche ausmachen.

Bei der **Volierenhaltung** ist der Stallraum in mehrere Ebenen aufgeteilt - nach EU-Richtlinie 1999/74/EG sind maximal vier Etagen zulässig und den Tieren müssen mindestens 1111 cm² Nutzfläche zur Verfügung stehen (maximal neun Hennen pro Quadratmeter). Da die Etagen auch als nutzbare Fläche anerkannt sind können bei der Volierenhaltung mehr Tiere je Quadratmeter Stallfläche als bei der Bodenhaltung gehalten werden. Die Legehennenverordnung begrenzt die maximale Tierzahl allerdings auf 18 Hennen je Quadratmeter Stallgrundfläche. Bei der Volierenhaltung müssen den Hennen Nester, eine Einstreufläche von mindestens 250 cm² pro Henne zur Verfügung stehen.

Bei der **Freilandhaltung** handelt es sich um Boden- und Volierenhaltungen, die über einen Auslauf verfügen. Der Auslauf sollte in der Nähe der Auslauföffnungen des Stalls befestigt sein, um Verschlämmungen zu vermeiden. Eine Bepflanzung des Auslaufes ist nicht vorgeschrieben.

Für das Jahr 2005 ergibt sich folgendes Bild für die konventionelle Legehennehaltung: 73,2% (28,8 Millionen Stallplätze) entfallen auf die Käfighaltung, 14,0% (5,5 Millionen)

auf die Bodenhaltung und 12,7% (5,0 Millionen) auf die Freilandhaltung. Die Auslastung der vorhandenen Stallplätze lag bei 81,9%.

In den letzten Jahren hat sich ein Strukturwandel in der Legehennenhaltung vollzogen: Im Jahr 2000 hatten die Betriebe noch 35,3 Millionen Hennen bei einer Stallkapazität von 41,1 Millionen Plätzen gehalten. Damals lag der Anteil der Käfighaltung noch bei 86,5% (35,6 Millionen Plätze). Die Bodenhaltung hatte im Jahr 2000 einen Anteil von 6,7% (2,8 Millionen) ebenso wie die Freilandhaltung (2,8 Millionen) (STATISTISCHES BUNDESAMT 2004).

2.4.3. Ökologische Legehennenhaltung

Die ökologische Geflügel/ Legehennenhaltung ist die einzige Haltungsform bei der eine Auslaufhaltung mit Pflanzenbewuchs vorgeschrieben ist. Nur bestimmte klimatische Bedingungen können eine Ausnahme von dieser Richtlinie herbeiführen (VERORDNUNG (EWG) Nr. 2092/91: „B 8.4.1. Geflügel muss in traditioneller Auslaufhaltung und darf nicht in Käfigen gehalten werden.B 8.4.5. ...Diese Auslaufflächen müssen größtenteils Pflanzenbewuchs aufweisen und mit Schutzvorrichtungen versehen sein.“).

Ausgehend von der aktuellen Vogelgrippe- Problematik muss allerdings darauf hingewiesen werden, dass die in Deutschland verhängte Stallpflicht auch für ökologisches Geflügel gilt. Das weitere Ausmaß und vor allem die Dauer der Stallpflicht kann momentan nicht abgeschätzt werden und hängt stark von dem weiteren epidemiologischen Verlauf der Vogelgrippe in Deutschland ab. Zu Beginn des Sommers 2006 ist voraussichtlich mit einer Aufhebung der Stallpflicht zu rechnen.

EU weit werden in etwa 40 Millionen Legehennen in ökologischer Haltung gehalten (Stand 2002) was einem Anteil von 14 % am Gesamtbestand entspricht. Allerdings ist zu beachten, dass der Anteil der ökologisch erzeugten Eier in der EU nur bei 1,3 % liegt, was ferner auf die nicht vergleichbare Intensität der ökologischen Haltung zurückzuführen ist. Einen vergleichsweise hohen Biohennenanteil am Gesamtbestand weisen unter anderem Dänemark (17,2 %) und Österreich (7, 6%) auf, während Deutschland mit 2, 8 % einen geringen Anteil aufweist. Absolut betrachtet liegt Deutschland mit 1,2 Millionen ökologischen Legehennen neben Frankreich mit 1,5 Millionen Legehennen an der Spitze. Seit Ende der 90er Jahre hat die ökologische Legehennenhaltung in Deutschland stetig zugenommen (ZMP, 2004).

Der Selbstversorgungsgrad von ökologisch erzeugten Eiern liegt in Deutschland bei etwa 80%, der Rest der Eier wird unter anderem aus den Niederlanden, Frankreich und Belgien importiert. Der Gesamtabatz von ökologischen Eiern in Deutschland liegt

(bezogen auf das erste Halbjahr 2005) bei etwa 4 % des Gesamteierabsatzes (ZMP, 2004).

Im Zuge der öffentlichen Diskussion wird stets von den Befürwortern der Käfighaltung angeführt, dass die ökologische Legehennen/ Geflügelhaltung für das Tier und in letzter Konsequenz auch für den Menschen ungesünder ist, da die Hennen aufgrund vieler nicht kontrollierbarer Umweltdeterminanten Krankheiten und Rückständen in erhöhtem Maße ausgesetzt sind. Das abgeschirmte System der Käfighaltung dagegen biete optimale Bedingungen für eine kontrollierte und sterile Erzeugung von Eiern. Zur Vervollständigung dieses Gedankens sollen abschließend zwei Studien aufgeführt werden, die beide Seiten des Bildes beleuchten: nach HAMSCHER weisen Eier aus ökologischer Haltung und Freilandhaltung mehr Kontaminanten (Dioxine und Propoxur) auf als Eier aus Käfighaltung. Daneben wurde erhoben, dass versuchsweise verfütterte Rückstände in Eiern aus Boden- und Freilandhaltung länger nachzuweisen sind als in Eiern aus Käfighaltung. HAMSCHER schließt daher auf ein „Recycling“ also eine Wiederaufnahme der Kontaminanten in Freiland- und Bodenhaltung durch den Kot. Ein Fall, der in der Käfighaltung schon durch die Konstruktion der Käfige nicht möglich ist (HAMSCHER, 2005). Für die ökologische Geflügelhaltung wird gegenüber der konventionellen Freilandhaltung ein schnellerer Abbau der Rückstände angenommen, da 1. der Tierbesatz geringer ist und 2. der Auslauf begrünt sein muss.

Eine andere bedeutende Problematik ist die Salmonellen Belastung von Geflügel. In einer vergleichenden Studie wurde untersucht, ob die Salmonellen- Kontamination bei Legehennen durch die Haltungsform beeinflusst wird. Die Untersuchung der Salmonellen-Befunde der einzelnen Haltungsgruppen ergab einen höheren Anteil Salmonellen- positiver Befunde innerhalb der Käfighaltung gegenüber der ökologischen Haltung (METHNER, 2003).

2.5. Grundlagen des Carotinoid- Metabolismus beim Huhn

Säugetiere besitzen nicht die Fähigkeit Carotinoide selber zu synthetisieren und sind somit auf eine Zufuhr durch die Nahrung angewiesen. Übergeordnet unterteilt man die Säugetiere in Carotinoid- Akkumulierer und –Nichtakkumulierer. Innerhalb der Akkumulierer unterscheidet man selektive und unselektive Akkumulierer, je nach Resorption einzelner oder mehrerer Carotinoide. Primaten und Geflügel zählen zu den unselektiven Akkumulierern, Rinder und Pferde dagegen zu den selektiven Akkumulierern (in ihrem Gewebe ist nur β - Carotin in höheren Konzentrationen vorhanden). Zu den Nichtakkumulierern gehören Schafe, Ziege und die meisten Labortiere (GOODWIN, 1986).

5.1. Verdauungsapparat und Aufnahme der Futtermittel

Hühner zählen zu den Omnivoren. Der gesamte Verdauungskanal ist im Verhältnis zu Körperlänge wesentlich kürzer als z.B. bei Wiederkäuern, daraus resultiert eine ebenfalls wesentlich kürzere Verweildauer des Futters im Verdauungstrakt. Als eine weitere Besonderheit ist der Kropf (Ingluvies), eine drüsenlose sackartige Erweiterung der Speiseröhre zu nennen (Speicherung des Futters). Die Aufnahme des Futters erfolgt durch einen zahnlosen Schnabel. Das mit wenig muzinreichem Speichel vermischte Futter gelangt in den Kropf und von dort aus in den Drüsenmagen (Pars glandularis). Im Drüsenmagen wird das Futter mit Magensaft vermischt und im folgenden Muskelmagen (Pars muscularis) mit Hilfe von Grit und Muskelkontraktionen zerkleinert. Der Hauptort der enzymatischen Verdauung und der Absorption ist der Dünndarm (Intestinum tenue). Ein kleiner Teil des Futters wird in den beiden Blinddärmen (Caeca) bakteriell ab- und umgebaut. Die Absorptionsrate ist hier allerdings niedrig. Durch Anpassung der Sekretion von Pankreas-, Gallen- und Dünndarmsekret an die aufgenommene Futtermenge wird eine optimale Verdauung im Dünndarmlumen gewährleistet. Generell aber ist beim Huhn von einer geringen Verdaulichkeit von Rohfaser auszugehen. Der Rohfaserabbau erfolgt in den beiden Blinddärmen, allerdings gelangt in die Blinddärme nur etwa 10 % des aufgenommenen Futters. Auch im Enddarm wird Rohfaser abgebaut, aufgrund der kurzen Verweildauer allerdings ein geringer Anteil (KIRCHGEßNER, 1997 und KÖNIG ET AL, 2001).

Für die Fütterung von Legehennen ergibt sich damit eine besondere Relevanz eines ausgewogenen Rohfaser- Eiweiß- Energie Verhältnisses. Wichtigste Komponenten im Futter von Legehennen sind: Rohprotein, Aminosäuren, Linolsäure, Calcium, weitere Mineralstoffe und Vitamine (besonders: Vit. A und D) (KIRCHGEßNER, 1997). Die Gehalte an Carotinoiden sind in diesen Futtermischungen sehr gering. Generell ist in Getreide 0,02- 0,14 mg/ 100g Lutein und 0,01- 0,03 mg/ 100g Xeaxanthin enthalten. β - Carotin ist

in Getreide nicht in nennenswerten Mengen nachgewiesen worden, siehe Tabelle 7 (LINDHAUER, 2003).

In der landwirtschaftlichen Praxis wird die Fütterung von Legehennen üblicherweise durch vorgefertigte Alleinfuttermischungen oder durch kombinierte Futtermischungen abgedeckt.

2.5.1.1. Ökologische Futtermittel und Grünfutter

Das Nahrungsspektrum von Geflügel in ökologischer Haltung unterliegt einer größeren Variation als konventionelle Alleinfuttermischungen, da zusätzlich zum verfütterten Legehennenfutter mehrere Komponenten durch die Hühner im Freiland aufgenommen werden: im Wesentlichen sind dies Körner, Samen, Früchte, Würmer, Insekten, Schnecken und grüne Pflanzenbestandteile (Grünfutter). Aber auch eigene Exkremente und der Kot anderer Tiere.

Die Hauptcarotinoidquelle für ökologisch gehaltene Legehennen sind grüne Pflanzenbestandteile, meist in Form von Weidegras. In grünblättrigen Pflanzenteilen sind β - Carotin und Lutein die dominanten Carotinoide (AUGUSTINE, 1992). Tabelle 7 gibt den β - Carotin Gehalt einiger Grünfuttermittel/ Futtermittel wieder.

Tabelle 7: β - Carotin Gehalt ausgewählter (Grün)Futtermittel (ALBERS ET AL, 2001)

β- Carotin Gehalt verschiedener Futtermittel	
mg/ kg Trockensubstanz	
Handelsfuttermittel	β- Carotin
Erbsen	<1
Futterhefe, ges.	<1
Gerste	<5
Hafer	<1
Mais	<5
Melasse	<1
Rapsschrot	<1
Roggen	<1
Sojaschrot	<1
Sonnenblumenextrakt	<1
Triticale	<1
Trockenschnitzel	<1
Weizen	<1
Grasmehl	100
Luzernegrünmehl	120
Grundfuttermittel	
Gras	400
Grassilage	250
Heu	100
Luzerne	400
Luzerneheu	150

Daraus wird ersichtlich, dass frisches Weidegras einen 10-fach höheren Gehalt an β -Carotin hat als Heu. Es wird angenommen, dass dieses Verhältnis entsprechend für Lutein gilt.

2.5.2. Resorption im Dünndarm

Die aufgenommenen Carotinoide werden im Magen- Darm Trakt enzymatisch aus den restlichen Futterbestandteilen isoliert und bilden mit Gallensäuren, Phospholipiden und Fettsäuren Mizellen. Die Mizellen werden durch die Intestinalmukosazelle resorbiert (PARKER ET AL, 1999). Dabei ist die Absorptionsrate aus dem Dünndarm von mehreren Determinanten abhängig: von der Effektivität der Freisetzung der Carotinoide aus der natürlichen Matrix, dem Rohfaseranteil der Nahrung und der Interaktionen zwischen verschiedenen Carotinoiden (VAN HET HOF ET AL, 2000). Besonders ein erhöhter Fettanteil der Nahrung führt zu einer gesteigerten Absorptionsrate an Carotinoiden, wobei dies mit der Tatsache zusammenhängt, dass Triglyceride der limitierende Faktor bei der Bildung von Mizellen sind (PARKER, 1999). Ebenso ist eine Sättigung der Absorption zu beachten, je höher der Gehalt an Carotinoiden im Futter, desto geringer die Absorptionsrate (LEESON, 2004).

2.5.3. Metabolisierung in der Intestinalzelle

Carotinoide werden zum größten Teil in der Intestinalmukosazelle zu Vitamin A metabolisiert. Dabei werden die Carotinoide zunächst durch das Enzym Dioxygenase zu Retinal gespalten und dann zu Retinol reduziert (KREUTZIG, 1997). Das Enzym Dioxygenase befindet sich in den Dünndarmzellen und in der Leber, womit eine Metabolisierung von Carotinoiden zu Vitamin A an diesen beiden Orten vollzogen wird. Die Konversionsrate ist stark Spezies abhängig und führt zur Unterscheidung von Akkumulierern und Nicht- Akkumulierern. Mit einem Verhältnis von 2 : 1 gehört Geflügel zu den effektivsten Umwandlern von Carotinoiden in Vitamin A (Rinder 8 : 1; Schwein 7 : 1) (ALBERS, 2001).

2.5.4. Transportmechanismen

2.5.4.1. Transport in der Intestinalzelle und in der Lymphe

Nicht metabolisierte Carotinoide werden in der Intestinalmukosazelle in Chylomikronen verpackt und gelangen so über den Intrazellularraum in die Lymphe. Es ist nicht vollständig geklärt wie Carotinoide an Chylomikronen gebunden werden, scheinbar ist

hier das Vorhandensein von Vitamin A vorteilhaft, da die Bindung an Chylomikronen durch Vitamin A unterstützt wird (PARKER, 1999 und DURING, 2005).

Inkorporiert in Chylomikronen gelangen Carotinoide über die Lymphe ins Blut (PARKER, 1999).

2.5.4.2. Transport im Blut

Im Blutkreislauf werden die Chylomikronen teilweise metabolisiert. Chylomikronen und Chylomikronen- Restkörper werden von der Leber aufgenommen. Hier werden die Carotinoide zu Vitamin A (siehe Kapitel 5.3.) metabolisiert oder wieder ins Blut abgegeben. Dies geschieht beim Geflügel vorwiegend über Lipoproteine sehr geringer Dichte (VLDL), die im Blut weiter zu Lipoproteinen geringer Dichte (LDL) oder hoher Dichte (HDL) umgesetzt werden können. VLDL sind beim Geflügel für den Transport zu den Eierstöcken und dem Eigelb verantwortlich, LDL und HDL transportieren Carotinoide in die Haut, Federn, Muskeln, Leber, Reproduktionsorgane und ins Fettgewebe (BORTOLOTTI ET AL, 2003 und ERDMAN ET AL, 1993).

2.5.5. Speicherung

Bei der Einlagerung von Carotinoiden sind mehrere Determinanten ausschlaggebend. Die wichtigsten Faktoren sind: der Carotinoidgehalt im Futter, die Art der Carotinoide, das Geschlecht des Tieres, die Jahreszeit, die physiologische Belastung und Leistung des Tieres. Der Hauptbedarf an Carotinoiden bei Legehennen geht von dem Eigelb aus; so ist es möglich, dass ein einziges Eigelb etwa 40- 45 % der Carotinoide enthält, die in der Leber des Tieres gefunden werden. Ausgehend von der Tatsache, dass eine Henne bis zu 10 Eigelb gleichzeitig entwickelt, sind mehr als 50 % der Carotinoide in den Eierstöcken und Eigelb abgelagert. Abbildung 8 gibt die unterschiedliche Intensität der Einlagerung der Carotinoide bei Legehennen am Beispiel von Astaxanthin und Zeaxanthin wieder.

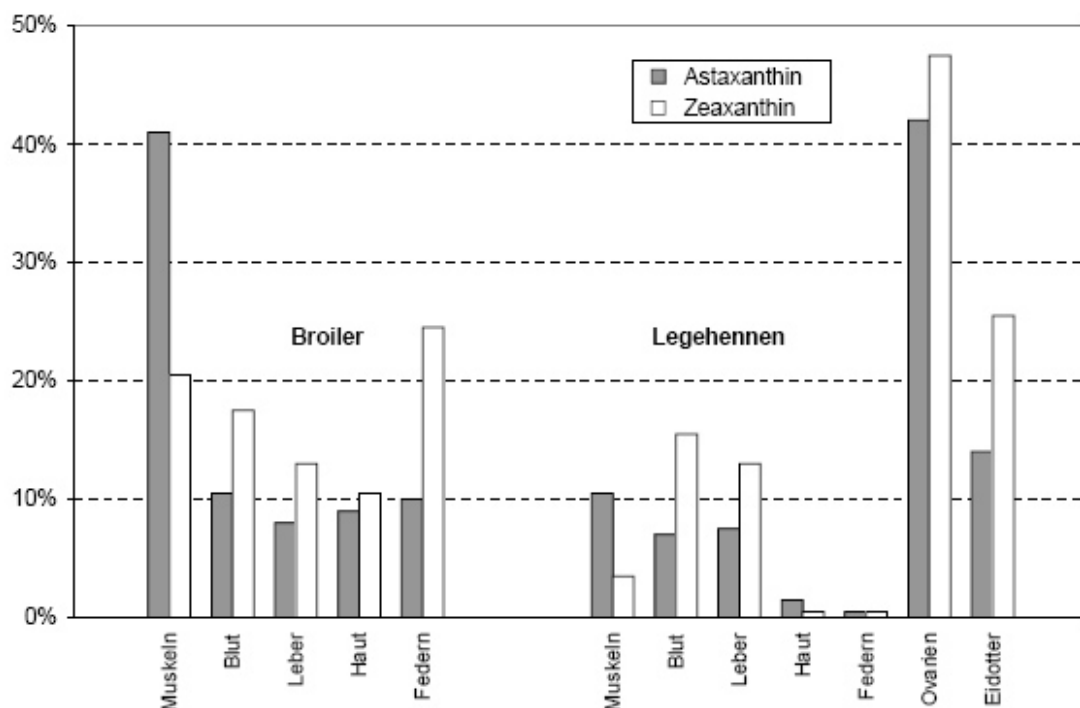


Abbildung 8: Einlagerung von Carotinoiden in verschiedenen Zielgeweben bei Broilern und Legehennen, Angaben in %- der aufgenommenen Menge des jeweiligen Carotinoids (aus: PÖTTER, 2003)

Die Konzentration von VLDL steigt in der Legeperiode von Rebhühnern um das 200 fache an. Da VLDL ebenfalls das Transportmedium für Carotinoide in die Ovarien und das Eigelb von Legehennen ist, können ähnliche Konzentrationen für Legehennen angenommen werden (BORTOLOTTI ET AL, 2003). Innerhalb der domestizierten Geflügelrassen scheinen Hühner die effektivsten Akkumulierer von Carotinoiden in Eigelb zu sein. Bei gleicher Gabe über das Futter haben Hühner nahezu doppelt so viel Carotinoide in das Eigelb und mehr als doppelt so viel Carotinoide in die Leber eingelagert als Truthähne, Enten und Gänse (SURAI ET AL, 1998). Der herausragenden Bedeutung der Carotinoide im Eigelb widmet sich Kapitel 2.5.7.

2.5.6. Eliminierung

Nicht im Dünndarm resorbierte Carotinoide werden mit den Fäzes ausgeschieden. Nach den o.g. Ausführungen wird klar, dass bei Legehennen ein bedeutender Teil der Carotinoide den Metabolismus über das Ei verlässt.

Zudem ist durch die in Kapitel 2.1.5. (Antioxidativer Wirkungsmechanismus) angesprochene Wirkung von Carotinoiden als Radikalfänger ein Abbau der Carotinoide gegeben. Für Geflügel bzw. Vögel wurde die o.g. Wirkungsweise unter anderem in

folgender Studie nachgewiesen: über eine Brutsaison hinweg wurden amerikanische Turmfalken elektromagnetischen Feldern ausgesetzt, diese Falken wiesen gegenüber der Kontrollgruppe signifikant niedrigere Carotinoidgehalte im Blut auf (erste Blutentnahme nach 14 Tagen, letzte Blutentnahme nach 70 Tagen) (FERNIE ET AL, 2001).

2.5.7. Die Bedeutung von Carotinoiden in der Embryonalentwicklung

Die Art und das Ausmaß der Einlagerung von Carotinoiden ins Eigelb ist in Kapitel 2.5.5. beschrieben worden. Zahlreiche Studien belegen einen Zusammenhang zwischen erhöhter Aufnahme von Carotinoiden durch künstliche Gabe über das Futter und einem Anstieg des Gehaltes an Carotinoiden im Eigelb (LEESTON, 2004, SANTOS-BOCANEGRA ET AL, 2004, BORTOLOTTI ET AL, 2003, SURAI ET AL 1998, KARADAS ET AL, 2005). Eine enge Korrelation zwischen Gehalt an Carotinoiden in Blut und im Eigelb belegt zudem, dass der größte Teil der Carotinoide ins Eigelb eingelagert wird (BORTOLLI ET AL, 2003). Daneben wird aber auch klar, dass ein erhöhter Carotinoidgehalt im Ei nicht mit verstärkter Pigmentierung des Embryos oder etwa einer Erhöhung des Eigewichtes oder der Eiproduktion einhergeht (BIARD ET AL, 2005 und SANTOS-BOCANEGRA, 2004). Die Tatsache aber, dass viele Wildvögel bzw. Geflügel in der Natur sehr viel höhere Konzentrationen an Carotinoiden in ihr Eigelb einlagern zeigt, dass den Carotinoiden offensichtlich eine bedeutende Aufgabe im Rahmen der embryonalen Entwicklung zukommt (KARADAS, 2005). Neben der Tatsache, dass sich der Embryo von Hühnern in einem geschlossenen System entwickelt, welches die gesamte Nährstoffversorgung während der 21-tägigen Entwicklung des Embryos gewährleistet und daher von vornherein sehr nährstoffreich sein muss, existieren weiterreichende Gründe einer Carotinoidakkumulation im Eigelb.

Während der Entwicklung und kurz nach dem Schlupf ist der Embryo zahlreichen Quellen von intensivem oxidativem Stress ausgesetzt: beim Wachstum sind im Gewebe des Embryos mehrfach ungesättigte Fettsäuren für die Entwicklung und für die spätere Funktionalität des Gewebes von herausragender Bedeutung. Die Akkumulation von ungesättigten Fettsäuren im Gewebe erhöht allerdings auch die Anfälligkeit gegenüber oxidativem Stress, da die mehrfach ungesättigten Fettsäuren empfindlich gegenüber einer Zerstörung durch die Lipidperoxidation sind. Ferner sind die Umstellung auf den atmosphärischen Sauerstoff beim Schlupf, die Umstellung des Embryos auf die Lungenatmung und die drastische Erhöhung der Stoffwechselrate bedeutsame Quellen von oxidativem Stress, denen der Embryo/ das Küken ausgesetzt ist (SURAI ET AL, 1996). Mehrere Studien haben aufgezeigt, dass Carotinoide im Eigelb während der embryonalen sowie postnatalen Entwicklung einen sehr wichtigen Anteil am antioxidativen

Schutzsystems des Embryos/ Kükens einnehmen. Dabei sind Embryos/ Küken mit einem hohen Versorgungsgrad an Carotinoiden resistenter gegen die Lipidperoxidation im Gewebe und scheinen ein besseres Immunsystem zu haben als Embryos mit einem niedrigen Versorgungsgrad an Carotinoiden (KARADAS ET AL, 2005). Bei Embryos mit einem hohen Versorgungsgrad an Carotinoiden ist zudem ein höherer Gehalt von Vitamin E in der Leber nachgewiesen worden, was auf den antioxidativen Schutz der Carotinoide von Vitamin E gegenüber einer Oxidierung zurückzuführen ist (SURAI ET AL, 1998).

Carotinoide werden vom Eigelb über die Eihaut in die Leber des Embryos transportiert, die kurz vor und nach dem Schlupf als Carotinoiddepot fungiert. Daneben besitzt der Embryo/ das Küken die Fähigkeit einige Carotinoide in der Leber in Vitamin A umzuwandeln (SURAI ET AL, 1998). Eine weitere wichtige Funktion, da Vitamin A essentiell für die Entwicklung des kardiovaskulären Systems des Embryos ist (ZILE, 2004).

Beim Schlupf ist die Konzentration der Carotinoide in der Leber am höchsten, indes aber sehr abhängig vom Carotinoidgehalt des Eigelbs (KARADAS ET AL, 2005). Von dem 18. bis zum letzten (21.) Tag der embryonalen Entwicklung steigt der Carotinoidgehalt in der Leber des Embryos um etwa das 10-fache an. Parallel dazu sinkt der Gehalt an Carotinoiden im Eigelb über die Gesamtbrütperiode etwa um 73 %. In der als Transportmedium dienenden Eihaut steigt der Gehalt an Carotinoiden parallel zum Transport in die Leber bis zum 17 Tag an, danach fällt der Gehalt wieder ab (SURAI ET AL, 1996); siehe Abbildung 9: Darstellung der Carotinoid- Konzentrationen im Eigelb, der Eihaut und der Leber während der Brütperiode.

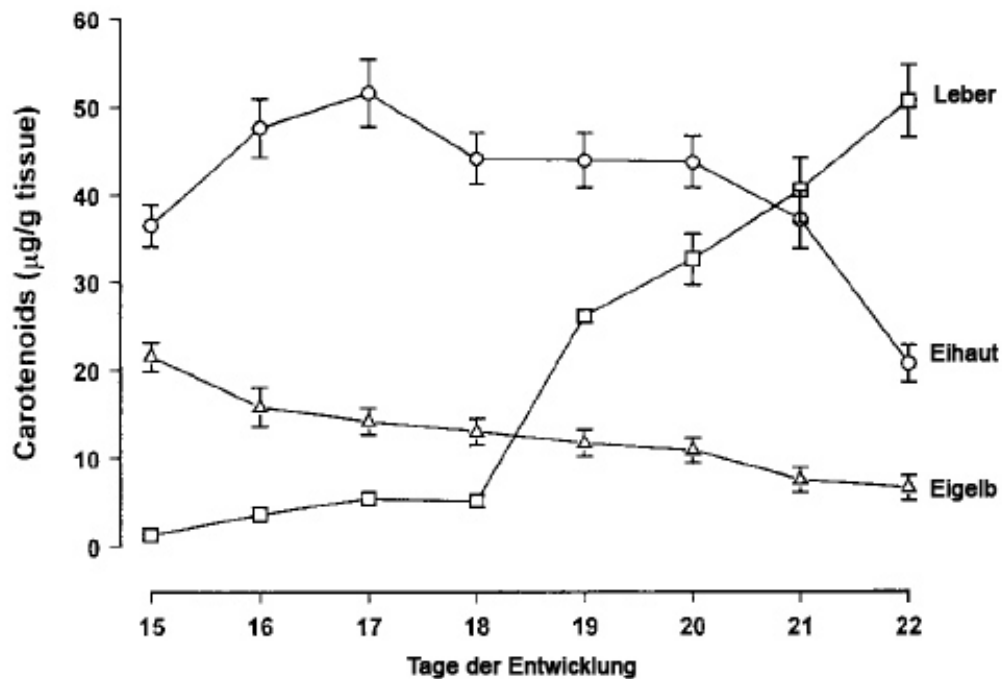


Abbildung 9: Darstellung der Carotinoid- Konzentrationen im Eigelb, der Eihaut und der Leber des Embryos während der Brütperiode (SURAI ET AL, 1996)

Die Bedeutung der Carotinoide im Eigelb kann zusammenfassend durch zwei Studien belegt werden: HAQ ET AL haben nachgewiesen, dass durch Anreicherung von Carotinoiden im Eigelb das Immunsystem der geschlüpften Küken positiv beeinflusst wird und KARADAS ET AL haben nachgewiesen, dass eine gute Versorgung mit Carotinoiden die Embryonensterblichkeit verringert (HAQ ET AL, 1996 und KARADAS ET AL, 2005). Teilweise geht man sogar davon aus, dass Vögel mit ausreichender Carotinoid-Versorgung weniger Immunoglobine in das Eigelb einlagern, da eine Akkumulation von Carotinoiden im Eigelb ein aktiver Beitrag für das Immunsystem des Embryos darstellt. Passiv empfangene Immunität durch Versorgung von Immunoglobulinen durch die Mutter kann Immunressourcen- schonend für das Muttertier reduziert werden (die hier herangezogene Studie wurde an weiblichen Möwen, *Larus fuscus* durchgeführt) (BLOUNT ET AL, 2002).

Der Wert der Carotinoide während der embryonalen Entwicklung wird vor dem Hintergrund, dass Küken aus carotinoidarmen Eiern auch vier Wochen nach dem Schlupf nicht in der Lage waren Carotinoide aus dem Futter ausreichend zu metabolisieren auch wenn sie bereits am ersten Tag nach dem Schlupf ein carotinoidreiches Futter erhalten haben besonders deutlich. Demgegenüber sind Küken aus carotinoidreichen Eiern bis zu vier Wochen nach dem Schlupf ausreichend mit Carotinoiden versorgt, auch wenn sie ein carotinoidfreies Futter erhalten haben. Die Tatsache, dass Küken aus carotinoidarmen Eiern bei gleicher Fütterung nach dem

Schlupf nie das Versorgungsniveau von Küken aus carotinoidreichen Eiern erreichen können zeigt, dass die Versorgung mit Carotinoiden während der Brutperiode die Embryos/ Küken befähigt, in der späteren Entwicklung effektiv Carotinoide aus dem Futter zu resorbieren und einzulagern (KOUTSOS, 2003).

Abschließend wird kritisch auf eine künstliche Anreicherung des Legehennenfutters durch Carotinoide hingewiesen. Der Huhn- Ei- Metabolismus scheint ein absolut optimiertes System darzustellen, welches durch künstliche Anreicherung von Stoffen leicht aus dem Gleichgewicht gebracht werden kann. Zunächst soll hier die in Kapitel 2.5.2. angesprochene Interaktion verschiedener Carotinoide und eine daraus resultierende mögliche Depression der Absorption bestimmter Carotinoide aufgeführt werden. Des Weiteren soll auf zwei Studien verwiesen werden, die bei einer künstlichen Anreicherung des Futters der Henne mit Vitamin A einen nachteiligen Effekt auf den Gehalt an Carotinoiden in der Leber des Hühnerembryos sowie einen daraus folgenden nachteiligen Effekt auf den antioxidativen Status des geschlüpften Embryos belegt haben (SURAI ET AL, 1998 b und SURAI ET AL, 2000 b).

2.6. Lebensmitteltechnologische Grundlagen

Die Verfügbarkeit von qualitativ hochwertigen und sicheren Lebensmitteln ist ein Grundbedürfnis. Lebensmittel müssen nicht nur individuellen Verbrauchererwartungen gerecht werden, sondern auch speziellen Ernährungsbedürfnissen. Qualitätsanforderungen im Hinblick auf die Gesundheit und den Erhalt der Nährstoffe und die Funktionalität von Lebensmitteln sind ausgesprochen hoch.

Im Rahmen der Konservierung von Lebensmitteln steht die Lebensmitteltechnologie oft vor einem Optimierungsproblem da sich die Konservierung von Lebensmitteln einerseits und die für den Verbraucher optimale Beschaffenheit der Lebensmittel andererseits (Erhalt der Inhaltsstoffe, Erhalt der natürlichen Textur) pareto- optimal verhalten. Hauptanliegen der Lebensmitteltechnologie ist die Aufgabe, pflanzliche und tierische Lebensmittel unabhängig von dem zeitlichen Aufkommen ganzjährig zur Verfügung zu stellen. Um ernährungsphysiologischen Aufgaben gerecht zu werden müssen bei der Lebensmittelverarbeitung alle schädigenden Einflüsse ausgeschaltet werden. Qualität und Lagerstabilität werden durch eine Vielzahl von Faktoren negativ beeinflusst. Dabei

spielen physikalische, thermische, biochemische und mikrobiologische Vorgänge eine Rolle. Die Hauptursache für Qualitätseinbußen sind chemische (enzymatische) Reaktionen oder mikrobiologische Vorgänge.

Generell werden zur Konservierung von Lebensmitteln thermische, mechanische, biologische und chemische Verfahren angewendet. Thermische Verfahren sind effektive Wege zur Inaktivierung von Mikroorganismen, allerdings ist die Effektivität dieser Verfahren stark von der Anwendungszeit sowie –temperatur abhängig. Unglücklicherweise geht häufig ein Verlust der Nährstoffe und der natürlichen Struktur sowie eine Bildung von ungewollten Aromen mit der optimalen Anwendungsintensität von thermischen Verfahren einher. Die innovative Lebensmitteltechnologie beschäftigt sich daher zunehmend mit nicht- thermischen Alternativen zur Konservierung von Lebensmitteln, bei denen die o.g. Nachteile nicht auftreten. Zudem kann übergeordnet davon ausgegangen werden, dass nicht- thermische Verfahren weniger Energieintensiv, kostenextensiver und umweltschonender sind (PIYASENA ET AL, 2003).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es nicht optimale Anwendungsdeterminanten einzelner Konservierungsverfahren im Rahmen der Ei- und Eiproduktkonservierung zu definieren (hierzu wird einschlägige Literatur herangezogen), sondern vielmehr die Auswirkungen ausgesuchter und in der Forschung aktuell diskutierter Konservierungsverfahren auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei aufzuzeigen und zu quantifizieren. Dazu haben thermische (Pasteurisation) und nicht- thermische Verfahren Anwendung gefunden. Unter den nicht-thermischen Verfahren sind folgende Prozesse einbezogen worden: hydrostatischer Hochdruck (HHP), Hochspannungsimpulse (HSI), Ultraschall und die Applikation von Ozon/ ozonisiertem Wasser.

2.6.1. Eier und Eiprodukte

Als preiswerte und vor allem sehr nährstoffreiche Lebensmittel, sind Eier wichtige Bestandteile in der Ernährung der Bevölkerung (siehe Kapitel 2.3.3.). Der Verkauf an den Endverbraucher erfolgt über Schaleneier. Daneben spielen Eier und Eiprodukte im Besonderen eine bedeutende Rolle in der Backwaren-, Feinkost-, Teigwaren- und Süßwarenindustrie. Der Anteil an Eiprodukten am gesamten Eiverbrauch liegt in Europa bei ca. 30 %.

2.6.1.1. Schaleneier und Flüssigeier

Eier sind leicht zerbrechlich und für die industrielle Verarbeitung nur relativ kurz haltbar. Deshalb werden frische Eier für die Nahrungsmittelindustrie, Bäckereien und

Großküchen zu Eiprodukten verarbeitet. Verwendet werden das Vollei, Eiklar oder das Eigelb. Sie werden als flüssige, gefrorene oder getrocknete Produkte angeboten.

Eiprodukte können gezuckert oder gesalzen weiterverarbeitet werden. Sie werden zur Herstellung von Back-, Süß- und besonders Teigwaren verwendet. Die getrockneten und gefrorenen Eiprodukte werden ähnlich wie die Flüssigprodukte in der Industrie verwendet.

- Das Vollei stellt tiefgefroren, flüssig gekühlt, sprühgetrocknet oder gezuckert ein typisches Produkt für die Back- und Teigwarenindustrie dar.
- Eigelb wird tiefgefroren, gezuckert gekühlt oder sprühgetrocknet ebenfalls in der Backwarenindustrie eingesetzt. Als reines Eigelb oder gesalzen findet es in der Feinkostindustrie, zur Farb- und Aromaintensivierung der Lebensmittel Verwendung. Daneben wird reines Eigelb auch in der Kosmetik- und Pharmaindustrie eingesetzt.
- Eiweiß wird unter anderem zur Herstellung von Backwaren eingesetzt, wobei hier schwerpunktmäßig die physikalischen Eigenschaften von Eiweiß genutzt werden.

Im Rahmen der Behandlung von Schaleneiern steht nur das verfahrenstechnische Waschen (meist in Verbindung mit anschließender Pasteurisation) der Eier zur Verfügung (STADELMAN, 1995).

Neben den Eigenschaften wie Geschmacks- und Aromaintensivierung werden Eier und Eiprodukte häufig aufgrund ihrer physikalischen Eigenschaften wie Koagulations-, Emulsifikations- und Aufschäumungsverhalten anderen Lebensmitteln zugesetzt (YANG ET AL, 1995).

2.6.1.2. Industrielle Verarbeitung von Eiprodukten

Zur Herstellung von Eiprodukten werden die Eier zunächst aufgeschlagen und entweder als Vollei/ Flüssigei verarbeitet oder getrennt nach Eiweiß und Eigelb weiterverarbeitet. Je nach weiterer Verwendung der Eiprodukte können Zucker, Salz oder andere Zusatzstoffe beigemischt werden.

Bedeutende verfahrenstechnische Entwicklungen der Eiprodukte- Industrie waren besonders die Weiterentwicklung von effizienten Eier- Aufschlagmaschinen, Eier- Aufschlag- Eiertrennmaschinen mit einem Durchlauf von bis zu 65.000 Eiern/ Stunde (COTTERILL ET AL, 1995), sowie das Einfrieren und besonders Trocknen von Eiprodukten (COTTERILL, 1995).

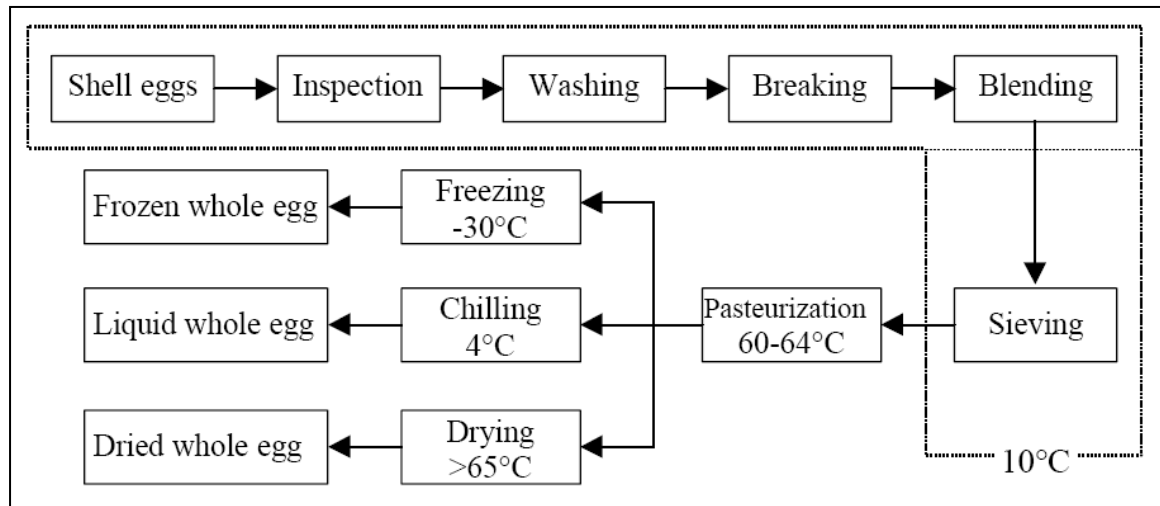


Abbildung 10: Schematische Darstellung der Verfahrensprozesse von Eiprodukten (LEE, 2002)

Die Pasteurisation ist im Rahmen der Eiprodukteherstellung der zentrale Prozess. Der Pasteurisierung von Eiern und Eiprodukten widmet sich Kapitel 2.6.2. Aus Abbildung 10 ist ersichtlich, dass sich die weitere Verarbeitung nach der Pasteurisierung je nach Eiprodukt unterscheidet:

- Flüssige Produkte werden nach der Pasteurisierung direkt abgefüllt und gekühlt (4 C°)
- Tiefkühl- Produkte werden abgefüllt und bei - 30 bis - 40 C°gefrostet
- Konzentriertes Flüssigei entsteht, indem vor dem Abfüllen Wasser entzogen wird. Hierdurch ist das Eiprodukt bei Raumtemperatur haltbar.
- Pulverprodukte werden nach der Pasteurisation einer Sprühtrocknung unterzogen: Der Rohstoff wird zusammen mit heißer Luft verteilt, wobei das Wasser verdampft und das Pulver übrig bleibt (BERQUIST, 1995)

Diese Eiprodukte sind dann bei entsprechender Lagerung ohne Qualitätsverluste bis zu mehreren Monaten lagerfähig.

2.6.2. Pasteurisierung

Die thermische Erhitzung gehört zu den am weitesten verbreiteten Methoden in der Lebensmittelkonservierung. Vorab kann allerdings festgestellt werden, dass nicht *ein* universeller Wirkungsmechanismus für die Inaktivierung von Mikroorganismen bekannt

ist sondern vielmehr eine Vielzahl von Schädigungen mit mehreren Angriffspunkten auf die Zelle, schließlich zu einer Abtötung führt. Angemerkt werden sollte, dass durch die Pasteurisierung von Lebensmitteln keine Sterilisation herbeigeführt wird. Ziel ist hier eine, die Lagerungsstabilität erhöhende, Keimreduzierung.

2.6.2.1. Pasteurisierung von Lebensmitteln

Die Anwendungsbeschreibungen, des generell in der industriellen Lebensmittelkonservierung eingesetzten Prozesses der Pasteurisierung, sollen im Folgenden auf Eier und Eiprodukte konzentriert werden. Die Pasteurisierung von (Schalen-)Eiern ist prinzipiell genauso möglich, wie die Pasteurisierung von Flüssigeiern.

Zur Pasteurisierung von (Schalen-)Eiern ist die Verwendung von einem Wasserbad oder Heißluftofen möglich. Allerdings ist eine Prozesstemperatur von unter 60 C° einzuhalten, da die funktionellen Eigenschaften der Eier leicht verändert/ zerstört werden (siehe Kapitel 2.6.2.2.). HOU ET AL (1996) haben bei einer Wasserbad- Pasteurisierung von mehr als 30 min Denaturierungserscheinungen des Eiweiß nachgewiesen, wobei die kritische Temperatur bei der Pasteurisierung von Schaleneiern bei 57 C° liegt. Bei einer Anwendungsdauer von 25 min und 57 C° Wasserbadtemperatur liegt das Pareto-Optimum der Wasserbad- Pasteurisierung: es sind keine funktionellen Veränderungen nachgewiesen worden und Mikroorganismen (hier: *S. enteritidis*, 3 log- Stufen) inaktiviert worden. Die durch einen Heißluftofen erreichte Inaktivierung von Mikroorganismen (hier: *S. enteritidis*, 5 log- Stufen) war insgesamt zufriedenstellender, eine Anwendungszeit allerdings von 180 min (55 C°) ist nicht zufriedenstellend (HOU ET AL, 1996).

Vielversprechendere Ergebnisse werden bei der Pasteurisierung von Flüssigeiern erzielt. Gängige Pasteurisierungsverfahren von Flüssigeiern in den USA (60C°, 3,5 min) und in England (64 C°, 2,5 min) inaktivieren etwa 5 - 9 log- Stufen der meisten Salmonella Typen. MAÑAS ET AL (2003) haben durch differenzierte Anwendungsmethoden (Hitzeschock Pasteurisierung) sogar die Inaktivierung von < 4 log- Stufen des hitzeresistenten *Salmonella senftenberg* 775 W nachgewiesen (MAÑAS ET AL, 2003).

Nach CUNNINGHAM (1995) sind für die Pasteurisierung von Flüssigeiern folgende Determinanten zu beachten: Eiweiß sollte bei 55,6 C° für 3,1 min behandelt werden, gesalzenes Flüssigei bei 62,2 C° für 3,1 min, gezuckertes Flüssigei bei 60,0 C° für 3,1 min und Eigelb bei 60,0 C° für 3,1 min. Ausschlaggebend dabei sind stets die Koagulationseigenschaften der verschiedenen Eiprodukte (siehe unten).

2.6.2.2. Wirkung auf Proteine

Bedeutendste Anwendungsbeschränkung der Pasteurisation von Eiern und Eiprodukten ist die denaturierende Wirkung auf Proteine. Generell ist für Flüssigeier (Vollei) bei Temperaturen von 61 °C (USA) - 64 °C (England) eine Pasteurisierung ohne Koagulationserscheinungen möglich. Für die Pasteurisierung von reinem Eiweiß sind Temperaturen von unter 59 °C einzuhalten, Eigelb da gegen ist unempfindlicher und kann bei Temperaturen von bis zu 64 °C pasteurisiert werden (CUNNINGHAM, 1995).

Bedeutende funktionelle Eigenschaften der Eier und Eiprodukte wie dem Schäumungsverhalten, Emulsifikationsverhalten, der Viskosität und den Gelatine-Eigenschaften werden durch Koagulationserscheinungen nachteilig beeinflusst (CUNNINGHAM, 1995).

2.6.2.3. Wirkung auf Mikroorganismen

Eine einzelne Ursache der Inaktivierung von Mikroorganismen durch Hitzeeinwirkung ist nicht bekannt, vielmehr scheinen eine Vielzahl von schädigenden Hitzeeinwirkungen an mehreren Angriffspunkten auf die Zelle zu wirken und so eine Abtötung herbeizuführen.

Dabei gehört die Änderung der Konformation von Proteinen zu den wichtigsten Mechanismen. Einer Konformationsänderung der Zellproteine folgen die Umstrukturierung der aktiven Zentren von Enzymen (ATP-ase Inaktivierung) und die Aufspaltung von DNA und RNA, wodurch die biochemischen Stoffwechselvorgänge der Zelle erheblich beeinflusst werden. Dabei können unter anderem die Synthese wichtiger Zellsubstanzen sowie die Aufrechterhaltung von verschiedenen Abwehrreaktionen der Mikroorganismen (Bildung von Hitzeschockproteinen) ausgeschaltet werden. Die Bedeutung der Schädigung von RNA und DNA liegt darin, dass die geschädigten Zellkomponenten nur dann durch Neusynthese ersetzt werden können, wenn die DNA und RNA nicht zerstört sind (ZENKER, 2004).

Generell ist zu beachten, dass Zusätze wie Zucker oder Salz die Hitzeresistenz von Mikroorganismen erhöhen (CUNNINGHAM, 1995).

2.6.3. Ozon Behandlung

Ozon (O_3) ist ein extrem instabiles Sauerstoffmolekül, das durch Verbindung eines Sauerstoffatoms ($O\cdot$) mit molekularem Sauerstoff (O_2) entsteht. Aufgrund der Instabilität degeneriert Ozon schnell wieder in ein Sauerstoffatom und in molekularen Sauerstoff zurück. Durch Zerfall bzw. Abgabe des freien Sauerstoffatoms wirkt Ozon als sehr starkes Oxidationsmittel. Auf diesem beachtlichen Oxidationspotential beruht die bakterizide bzw. antimikrobielle Wirkung von Ozon (GÜZEL- SEYDİM, 2004 a).

2.6.3.1. Ozon Behandlung von Lebensmitteln

Ausgehend von einer starken antimikrobiellen Wirkung wird Ozon seit einigen Jahren in der Lebensmitteltechnologie eingesetzt. Zunächst als Desinfektionsmittel für Trinkwasser, für Schwimmbecken und zur Wasseraufbereitung eingesetzt, wird nun auch die Auswirkung von Ozon auf die Verlängerung der Lagerungsdauer bzw. Verringerung des mikrobiellen Potentials bei Lebensmitteln untersucht. Dabei kann Ozon nur im Rahmen einer Oberflächendesinfektion eingesetzt werden: es wird im Zuge des Waschprozesses von festen Lebensmitteln mit intakten Oberflächen (Obst und Gemüse) angewendet bzw. kombiniert eingesetzt, zur Desinfektion von Verpackungsmaschinen und anderen in den Verfahrensprozess integrierten Geräten (KIM ET AL, 2003) und zur Desinfektion von Geflügelschlachtkörpern bereits erfolgreich angewendet (Ozon inaktivierte dabei 2 log- Stufen aller vorhandenen Mikroorganismen ohne signifikante Erhöhung der Lipidoxidation und ohne Farbveränderungen des Schlachtkörpers) (SHELDON ET AL, 1986).

Zur Konservierung von Obst und Gemüse ist ozonisiertes Wasser unter anderem erfolgreich in den Waschprozess von Möhren (HASSENBERG ET AL, 2005), Sellerie (ZHANG ET AL, 2005), Eisbergsalat (BAUER ET AL, 2003), Äpfeln, Zwiebeln und schwarzen Pfefferkörnern (GUZEL- SEYDIM ET AL, 2004 b) integriert worden. Dabei wurden vorhandene Schnittflächen gereinigt, das mikrobielle Niveau herabgesetzt und die Lagerungsstabilität erhöht. Einbußen in Struktur, Textur sowie Inhaltsstoffe der untersuchten Lebensmittel wurden nicht ermittelt. Die Tatsache allerdings, dass Ozon ein sehr starkes Oxidationsmittel ist, setzt der Anwendung von Ozon Grenzen. Im Rahmen des Einsatzes zur Konservierung von Eiern und Eiprodukten kommt nur eine Konservierung von Schaleneiern in Frage, da flüssige Lebensmittel nicht mit Ozon behandelt werden können und eine derartige Behandlung mit Ozon die Carotinoide im Eigelb zerstören würde.

2.6.3.2. Wirkung auf Mikroorganismen

Ozon zerstört Mikroorganismen durch die progressive Oxidation von lebenswichtigen Zellbestandteilen. Wobei die Oberfläche der Zellen als Hauptangriffspunkt von Ozon zerstört wird. So oxidiert Ozon Aminosäuren von Enzymen, Peptiden und Proteinen in der Zelle und zerstört so ihre Wirkung. Desweiteren werden durch Ozon mehrfach ungesättigte Fettsäuren oxidiert, dies führt zu einem Zerreißen der Zellwände. Da Ozon die Zellmembran sowie auch innere Bestandteile der Zelle durch Oxidation zerstört, werden Gram- negative und gleichsam Gram- positive Bakterien durch Ozon inaktiviert. Zudem werden Viren durch die Zerstörung der RNA von Ozon angegriffen (GUZEL-

SEYDIM, 2004 b). GÜZEL- SEYDIM ET AL (2004 a) haben die Inaktivierung von Sporen (*B. stearothermophilus*), Gram- negativen (*E. coli*) und Gram- positiven (*S. aureus*) Bakterien in verschiedenen Lebensmittelbestandteilen nachgewiesen. In reiner Pufferlösung und Stärke war die Inaktivierung am ausgeprägtesten, nach 10 minütiger Behandlungszeit mit Ozon waren keine Bakterien mehr nachzuweisen. In Sahne (fettreiche Lebensmittel) sind am wenigsten Bakterien inaktiviert worden (GUZEL-SEYDIM, 2004 a).

Der Vorteil der extremen Reaktions- bzw. Oxidationsfreudigkeit von Ozon und damit einer sehr effektiven Zerstörung von Mikroorganismen setzt zugleich die Grenzen des Einsatzes, da durch eine derart ausgeprägte Reaktivität auch wertvolle Lebensmittelbestandteile zerstört werden können. Ein Einsatz als oberflächliche Desinfektion von Obst und Gemüse scheint die Zerstörung von Nahrungsbestandteilen allerdings gering zu halten.

2.6.4. Ultraschall Behandlung

Grundlegender Wirkungsmechanismus im Bereich der Ultraschall- Anwendung im wässrigen Medium zur Lebensmittelkonservierung ist die Kavitation. Die Kavitation wird durch ultraschallinduzierte zyklische Wechseldrücke hervorgerufen und beschreibt die Dynamik von leeren und mit Gas oder Dampf gefüllten Blasen. Zur Blasenbildung kommt es bei Einwirkung von Unterdruck, wobei die Flüssigkeitsteilchen auseinander gezogen werden. Die Blasen können sich dabei spontan mit Gas oder Dampf füllen. Mit zunehmender Schwingungsdauer wachsen die Blasen stark an und kollabieren schließlich durch den äußeren Druck (ZHENG, 2006). Dabei werden chemische und radikalische Reaktionen angestoßen, vor allem aber werden durch den Blasenkollaps Stoß- und Schockwellen emittiert, die wiederum Drücke von bis zu 100 MPa initiieren. Die daraus resultierenden mechanischen Effekte, wie z.B. das Zerreißen oder der Abbau bakterieller Zellwände sind die grundlegende Ursache für die Keimreduzierung durch Ultraschall (ZENKER, 2004). Das Ausmaß der aus dem Blasenkollaps resultierenden Effekte wie Druck- und Temperaturentstehung, Radikalbildung und Schockwellenemission hängt stark von der Intensität des Ultraschallfeldes ab, welches durch Frequenz und Schallwellenamplitude reguliert werden kann. Generell kann die Schallenergie durch die Schallleistung (W), die Schallintensität (W/cm^2) oder

durch die Schallenergiedichte (W/ cm^3) beschrieben werden. Im Rahmen des Hoch-Energie- bzw. Leistungsschalls besteht die Möglichkeit der Anwendung unter einer niedrigen Frequenz und hohen Amplitude (mögliche Bakterieninaktivierung und Zellaufschluss) oder unter einer niedrigen Amplitude und hohen Frequenz (Monitoring und medizinische Anwendung, zerstörungsfrei) (KNORR, 2004).

2.6.4.1. Ultraschall Behandlung von Lebensmitteln

Vorweg gestellt werden kann, dass die Ultraschallanwendung im Bereich der Lebensmittelverarbeitung neben der Konservierung zunächst in folgenden Bereichen eingesetzt wurde: sie fand Einsatz bei der Herstellung von Homogenisaten, Extrakten, bei der Bildung von Emulsionen, bei der Trocknung, beim Gefrieren, beim Schneiden von gefrorenen oder weichen Lebensmitteln und beim Schweißen von Verpackungen (ZENKER, 2004). So haben ZHENG ET AL (2006) neben der Anwendung im Bereich der Lebensmittelkonservierung durch Ultraschalleinwirkung beim Gefrieren von Lebensmitteln eine verbesserte Qualität der gefrorenen Lebensmittel nachgewiesen.

Bei Ultraschallintensitäten, die die Qualität der Lebensmittel nicht oder in tolerierbarem Maße beeinflussen, ist der Effekt der Keimreduzierung allerdings oft sehr gering.

Daher kommt der Verfahrenskombination im Rahmen einer optimierten Ultraschall-Anwendung besondere Bedeutung zu. Vielversprechend scheint daher im Besonderen der Einsatz von Ultraschall kombiniert mit Druck (Manosonic), mit Hitze (Thermosonic) und mit Druck und gleichzeitiger Hitzezuführung (Manothermosonic) (PIYASENA, 2003). KNORR ET AL (2004) haben nachgewiesen, dass durch kombinierte Prozessführung von Ultraschall und Hitze (Thermosonic) mehr Bakterien inaktiviert werden konnten, als jeweils unter separater Anwendung der beiden Verfahren. Diese Ergebnisse wurden im Rahmen einer Ultraschall- bzw. thermischen Ultraschallbehandlung von Karottensaft, Orangensaft und Milch generiert (ZENKER ET AL, 2003). Im Bereich der Anwendung zur Konservierung von Eiern liegen Ergebnisse von LEE vor (LEE ET AL 2003). In Flüssigeiern wurde eine Inaktivierung von *E. coli* Bakterien nach 150 s und bei 34,6 W (Schallleistung) nachgewiesen. Parallel zur Erhöhung der Schallleistung konnte auch eine erhöhte Inaktivierung von *E. coli* Bakterien nachgewiesen werden (24,6 W, 300s= 1 log- Stufe Reduktion; 42,0 W, 300s= 2 log- Stufen Reduktion). Eine Abtötung von *Listeria seeligeri* in Flüssigeiern durch Ultraschall konnte im Rahmen dieser Studie nicht nachgewiesen werden (LEE ET AL, 2003).

2.6.4.2. Wirkung auf Proteine

Ultraschall induzierte Konservierung von proteinreichen Lebensmitteln ist aufgrund einer prozessbedingten Temperaturerhöhung eingeschränkt (LEE ET AL, 2003). Bedeutender allerdings sind die Einschränkungen durch Proteinkoagulation die sich durch die notwendige Kombination der Ultraschallanwendung mit anderen Verfahren (HHP, Pasteurisierung) ergeben.

2.6.4.3. Wirkung auf Mikroorganismen

Wie in Kapitel 2.6.3. schon aufgeführt ist die bakterizide Wirkung des Hochleistungsultraschalls auf die im wässrigen Medium auftretende Kavitation zurückzuführen. Sie ist Ursache für eine Schädigung der Zellwand, Zellmembran sowie Einheiten im Inneren der Zelle. Dafür werden vor allem die infolge intensiver Blasenimplosionen erzeugten Schockwellen mit extremen Wechseldrücken verantwortlich gemacht. Neben der mechanischen Zerstörung werden vereinzelt Ursachen wie Schädigung der DNA (Doppelstrangbruch durch Angriff freier Radikale) oder Depolymerisationsreaktionen in inneren der Zelle für die Abtötung von Mikroorganismen herangezogen (ZENKER, 2004).

Generell scheinen Gram- positive Bakterien und Sporen resistent gegenüber einer Ultraschall- induzierten Abtötung (CONDÓN ET AL, 2005), wobei hier ein bedeutsamer Einfluss der Verfahrenstemperatur existiert. Etliche Mikroorganismen zeigen ab einer Prozesstemperatur von über 50 °C eine (erhöhte) Anfälligkeit gegenüber der Ultraschall- Inaktivierung. So haben KNORR (KNORR ET AL, 2004) und ZENKER (ZENKER ET AL, 2003) eine Enzyminaktivierung von über 90 % bei einer Behandlungstemperatur von 80 °C in frischem Orangensaft nachgewiesen.

Allerdings sollte abschließend festgehalten werden, dass bei vergleichenden Untersuchungen von thermischer Konservierung mit Ultraschall kombinierten thermischen Behandlungsmethoden (UST), ein erhöhtes Inaktivierungspotential der UST- Verfahren nachgewiesen worden ist (für *Bacillus stearothermophilus* Sporen und *E. coli*). Für die UST- Verfahren ergibt sich damit der Vorteil einer möglichen Reduktion der Behandlungstemperatur oder der Anwendungszeit (KNORR ET AL, 2004).

2.6.5. Hochdruck- High Hydrostatic Pressure (HHP)

Basis der Anwendung von Hochdruckverfahren im Rahmen der Lebensmittelkonservierung sind zwei Grundprinzipien: das isostatische Prinzip, welches beinhaltet, dass der Druck stets gleichförmig und unmittelbar auf den gesamten ausgesetzten Stoff wirkt und das Prinzip von Le Chatelier und Braun, wonach unter Druck bevorzugt Reaktionen ablaufen, die zu einer Volumenabnahme führen, während Reaktionen die zu einer Volumenzunahme führen unterdrückt werden (MARQUIS, 1975). Folglich werden Bindungen größerer Moleküle, die aufgrund der van der Waals Kräfte miteinander in Wechselwirkung stehen aufgrund ihrer geringen Bindungsenergie wirksam durch Druck inaktiviert bzw. zerstört. Beispiel hierfür sind Bakterien, Hefen, Schimmelpilze oder Enzyme.

2.6.5.1. HHP- Anwendung bei Lebensmitteln

Hauptaufgabe der Hochdruckanwendung bei Lebensmitteln ist die Verlängerung der Lagerungsstabilität und die Inaktivierung bzw. Zerstörung von Mikroorganismen (KNORR, 2006).

Bei der Anwendung von Hochdruck in der Lebensmitteltechnologie wird im Allgemeinen ein Druck von 100- 1000 MPa appliziert. Ausgehend vom isostatischen Prinzip ist eine Behandlung der Lebensmittel (Verpackungs-)größen- sowie formunabhängig. Von großer Bedeutung für die Keimreduzierung ist der Wassergehalt der Probe, dabei ist etwa ein Mindestanteil von 15 % Wassergehalt notwendig. Trockene Lebensmittel können mittels Hochdruckverfahren nicht- oder nur befeuchtet entkeimt werden (FRANKE, 2000).

Neben der Inaktivierung von Mikroorganismen bietet die Anwendung hydrostatischen Drucks erhebliche verfahrenstechnische Vorteile beim Gefrieren sowie Auftauen von Lebensmitteln. Durch Ausnutzung der unter Druck verschobenen Phasengrenzlinien des Wassers ist es durch Druckgefrieren oder Auftauen unter Druck möglich schlagartig den Prozess des Gefrierens/ Kristallisation oder des Auftauens herbeizuführen. Vorteil dieser Verfahren ist eine gleichmäßige Kristallisation mit gleichmäßig geformten und kleinen Eiskristallen sowie eine erhebliche Erhöhung der Geschwindigkeit der ablaufenden Prozesse. Die Phasengrenzlinien von Wasser und sich daraus ergebende verfahrenstechnische Möglichkeiten sind in der Literatur einträglich beschrieben (KNORR ET AL, 1998).

2.6.5.2. Wirkung auf Mikroorganismen

Durch hydrostatischen Druck werden diverse Veränderungen in der Morphologie der Zellen, in den Zellmembranen und biochemischen Reaktionen der Mikroorganismen herbeigeführt. Als Hauptursache für die Inaktivierung der Mikroorganismen wird die Zerstörung bzw. Beschädigung der Zellmembran gesehen (SMELT ET AL, 2001). Dementsprechend kann generell angenommen werden, dass Gram- negative Bakterien im Gegensatz zu Gram- positiven Bakterien anfälliger gegenüber Hochdruck sind.

Für Sporen gilt zunächst eine Unempfindlichkeit gegenüber Hochdruck. HEINZ UND KNORR haben jedoch nachgewiesen, dass im frühen Stadium der Keimung eine Anfälligkeit gegenüber Hochdruck gegeben ist. Dies beruht auf der Depolymerisation des Cortex und des Eindringens von Wasser in den Zellkern. Angenommen wird, dass die Anwendung von Hochdruck zunächst die Keimung der Sporen initiiert und dann im Stadium der Keimung die Sporen inaktiviert. Dabei wirkt sich eine Erhöhung der Temperatur positiv auf das Inaktivierungspotential von Hochdruck aus (HEINZ UND KNORR, 2001 und 2005).

Zahlreiche Studien in der Literatur zeigen die Effektivität der Inaktivierung von Mikroorganismen durch Hochdruck. Im Folgenden werden als zusammenfassender Überblick exemplarisch einige Studien zu den Auswirkungen von HHP auf Mikroorganismen in diversen Lebensmitteln aufgeführt: das erste industriell durch HHP konservierte Produkt waren Fruchtmarmeladen (HORIE ET AL, 1991), daneben sind durch HHP- Behandlungen von Tomaten und Blattsalat mit 300 MPa Mikroorganismen abgetötet worden, wobei allerdings Einbußen im Erscheinungsbild und der Gemüsestruktur hingenommen werden mussten (ARROYO ET AL, 1997). LEE ET AL (1996) konnten die Lagerungsstabilität von Gemüsesäften durch HHP- Behandlung verlängern. YUSTE ET AL (2001) haben ein erhöhtes Inaktivierungspotential in Geflügelwürsten von HHP gegenüber thermischen Konservierungsverfahren nachgewiesen. Generell allerdings ist die HHP- Behandlung von Proteinreichen Lebensmitteln wie Eiern, Fleisch und Fisch durch Hochdruck induzierte Proteindenaturierung eingeschränkt (siehe Kapitel 2.6.5.3.).

Im Rahmen der Hochdruck- Behandlung von Eiern liegen Studien zu der Konservierung von Flüssigeiern (LWE) vor. PONCE ET AL (1998 und 1999) haben die Inaktivierung von *E. coli* bei 450 MPa (1998) und *Salmonella enteritidis* (1999) in Flüssigeiern durch Hochdruck nachgewiesen, mussten allerdings Einbußen in Bereich der Proteindenaturierung hinnehmen. Grundsätzlich gilt auch bei der Inaktivierung von Mikroorganismen in Flüssigeiern je höher die Temperatur und der Druck, desto effektiver werden Mikroorganismen abgetötet, wobei dies unabhängig von der Proteindenaturierung betrachtet wurde (PONCE ET AL, 1999).

Umfassendere Studien unter Einbeziehung von Qualitätsdeterminanten und Verfahrenskombinationen haben LEE (2002) und LEE ET AL (1999 und 2003) durchgeführt, da hierbei besonderer Fokus auf das Denaturierungsverhalten von Eiweiß gelegt wurde, werden die o.g. Studien in Kapitel 2.6.5.3. näher erläutert.

2.6.5.3. Wirkung auf Proteine

Ziel der oben aufgeführten Studien war die Optimierung des Hochdruck- Verfahrens durch Variation der Parameter Druck, Temperatur und Zeit. Wobei das Pareto- Optimum zwischen Proteindenaturierung und maximaler Abtötung von Mikroorganismen festgelegt wurde. Als optimale Prozessparameter wurden die Behandlungen mit 250 MPa, für 886 s bei 5 °C und mit 300 MPa, 200s bei 5 °C ermittelt (LEE, 2002). Ab einer Druckapplikation von 200 MPa konnte die Koagulation der Flüssigeier nachgewiesen werden, dabei war die zeitliche Verzögerungsphase zwischen einsetzen der Druckbehandlung und dem Auftreten der Koagulation eine wichtige Determinante. Bei 200 MPa setzten erste Koagulationserscheinungen erst nach etwa 2000 s ein, ab einem Druck von 400 MPa setzte die Koagulation der Proteine unmittelbar ein (Prozesstemperatur: 5 °C). Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass je höher der angewendete Druck und je höher die Temperatur ist, je schneller denaturieren die Proteine im Flüssigei (LEE ET AL, 1999).

LEE ET AL konnten zudem einen Synergieeffekt im Rahmen einer Verfahrenskombination von HHP und Nisin ermitteln. Dabei inaktiviert die Vorab- Behandlung mit Nisin Gram-positive Bakterien bzw. sensibilisiert diese gegenüber einer Inaktivierung durch HHP, während Gram- negative Bakterien durch HHP zerstört werden (LEE ET AL, 2003).

2.6.6. Hochspannungsimpulse (HSI), Pulsed electric fields (PEF)

Bei der Anwendung von Hochspannungsimpulsen werden kurze (im μ - Sekundenbereich) Impulse genutzt um Mikroorganismen zu inaktivieren. Die Lebensmittel befinden sich dabei zwischen zwei Elektroden, welche die Impulse emittieren. Geeignet für die Konservierung durch Hochspannungsimpulse sind folglich flüssige bis fließfähige Lebensmittel (WOUTERS, 2001). Ein besonderer Vorteil der HSI-Konservierung ist die geringe Temperaturentwicklung während des

Behandlungsprozesses, womit sich auch wärmeempfindliche Produkte schonend konservieren lassen.

Obwohl die elektrischen Feldimpulse eine sehr hohe Intensität (20- 80 kV/ cm) aufweisen (hierauf beruht die keimreduzierende Wirkung) ist eine Wirtschaftlichkeit des Verfahrens durch die sehr kurze Anwendungszeit gegeben, die zwischen 50- 480 μ - Sekunden variieren kann (GÓNGORA- NIETO ET AL, 2003).

In Bezug auf die Auswirkungen der Prozessdeterminanten soll zusammenfassend festgehalten werden, dass die elektrische Feldstärke, die Impulslänge, die Anzahl der applizierten Impulse und die Ausgangstemperatur die Effektivität der Inaktivierung von Mikroorganismen beeinflussen. Generell resultiert aus einer Erhöhung bzw. Verstärkung der o.g. Parameter eine erhöhte Inaktivierung von Mikroorganismen (HEINZ ET AL, 2002). Wobei zahlreiche Studien auf die optimale Gestaltung der Prozessparameter, der Zerstörung von Mikroorganismen und der minimalen Auswirkungen auf das Produkt gezielt ausgerichtet worden sind (u. a. WOUTERS, 2002, HEINZ ET AL, 2002, KNORR ET AL, 2001).

2.6.6.1. HSI- Anwendung bei Lebensmitteln

Die Anwendung von Hochspannungsimpulsen im Rahmen der Lebensmittelkonservierung wird nun seit 40 Jahren genutzt und optimiert. Grundsätzlich scheinen flüssige Lebensmittel (im Besonderen Säfte, Milch aber auch Yoghurt) besonders geeignet (BARBOSA-CÁNOVAS ET AL, 2005).

Anwendungseinschränkungen ergeben sich aus der elektrischen Leitfähigkeit einiger Lebensmittel. Je höher die elektrische Leitfähigkeit der Lebensmittel ist, desto ungeeigneter gegenüber einer Hochspannungsimpulsbehandlung sind diese Lebensmittel (die Impulse werden dann ausschließlich von Elektrode zu Elektrode der Behandlungskammer über die Probe hinweg geleitet). Zu beachten ist, dass die elektrische Leitfähigkeit mit steigender Temperatur zunimmt und bei Flüssigeiern gegenüber Säften und Wasser höher ist, sowie mit steigender Temperatur schneller ansteigt (HEINZ ET AL, 2002).

Im Folgenden werden exemplarisch einzelne Studien aufgeführt, die die HSI-Behandlung von Eiern (Flüssigeiern) beinhalten. CALDERÓN- MIRANDA ET AL haben den Einfluss von HSI und HSI kombiniert mit einer Nisinbehandlung auf *Listeria innocua* in Flüssigeiern untersucht. Im Rahmen der HSI- Anwendung mit den optimalen Prozessparametern von 50 kV/ cm und 32 Impulsen konnte in Inaktivierung von 3,5 log-Stufen nachgewiesen werden. Kombiniert mit Nisin (100 IU Nisin/ ml) konnten Synergieeffekte von Nisin und HSI ermittelt werden, die insgesamt zu einer Inaktivierung

von 5,5 log- Stufen führten (CALDERÓN-MIRANDA ET AL, 1999). GÓNGORA- NIETO ET AL haben unter Berücksichtigung einer optimalen Energiezufuhr die Lagerungszeit von Flüssigeiern durch HSI- Anwendung auf 20 Tage verlängert (Prozessparameter: Lagerung bei 4 °C, HSI für 489 µs und 266 Impulsen). Eine intensivere HSI- Anwendung und daraus resultierende verlängerte Lagerungsdauer war Energiewirtschaftlich nicht sinnvoll (GÓNGORA- NIETO ET AL, 2003).

Im Rahmen einer Inaktivierung von *E.coli* und *Salmonella enteritidis* in Flüssigeiern (Eigelb) haben AMIALI ET AL optimale Prozessparameter festgelegt. Übergeordnet führte die Verlängerung der Behandlungszeit, die Erhöhung der elektrischen Intensität und die Behandlungstemperatur (variiert von 20°C über 30 °C bis zu 40°C) zu einer Erhöhung der Inaktivierung der o.g. Mikroorganismen. Bei einer Impulsintensität von 30 kV/ cm und einer Behandlungstemperatur von 40°C sind *S. enteritidis* und *E. coli* um etwa 5 log- Stufen reduziert worden, wobei *S. enteritidis* resistenter gegenüber einer HSI- Inaktivierung war als *E. coli* (AMIALI ET AL, 2006).

2.6.6.2. Wirkung auf Proteine

BARSOTTI ET AL haben die Auswirkungen von HSI auf die Proteinkoagulation unter anderem am Beispiel von Eiweiß untersucht. Im Rahmen einer Anwendung bis zu 35 kV/ cm wurden unter bestimmten Prozessparametern zwar die Ionisierung von Sulfhydrylgruppen und eine partielle Proteinentfaltung beobachtet, diese Prozesse waren aber reversibel, so dass sich der Ausgangszustand unmittelbar wieder hergestellt hat. Generell ist davon auszugehen, dass HSI keine signifikanten Auswirkungen auf Proteine im Besonderen auf Eiweiß hat (BARSOTTI ET AL, 2002 und JEANTET, 1999). Bei einer Applikation von sehr kurzen aber intensiven Impulsen haben BARSOTTI ET AL (2002) keine Denaturierungserscheinungen der hitzeempfindlichen Proteine β - Lactoglobulin und Ovalbumin nachgewiesen (BARSOTTI ET AL, 2002).

Ausgehend von einer intensiven Wirkung auf Mikroorganismen und geringen bzw. keinen Wirkung auf Proteine scheint die Anwendung von HSI eine hervorragend geeignete Methode zur schonenden sowie effektiven Konservierung von Flüssigeiern.

2.6.6.3. Wirkung auf Mikroorganismen

Zwei Mechanismen sind für die Zerstörung von Mikroorganismen durch HSI- Behandlungen verantwortlich. Der elektrische Zellzusammenbruch und die sog. Elektroporation. Nach Zimmermann kann der elektrische Zellzusammenbruch folgendermaßen beschrieben werden: durch die HSI Anwendung wird von außen an der

Zelle ein elektrisches Feld angelegt und über die Zellmembran der Mikroorganismen ein Membranpotential induziert. Ein steigendes Membranpotential führt zu einer Abnahme der Zellwanddicke. Ab einem Membranpotential von > 1 V wird die Zellwand zunächst reversibel durch Porenbildung geschädigt. Je nach Größe und Anzahl der Poren kommt es zu einer irreversiblen Schädigung und die Zelle ist durch mechanische Zerstörung der Zellwand inaktiviert. Die Elektroporation beschreibt die durch ein elektrisches Feld induzierte zeitweise Permeabilität der Zellwände. Dies führt zu einer Aufnahme von kleinen Molekülen durch die Zellwand (z.B. Wasser) und folgend zu einem Anschwellen der Zelle. Resultiert daraus ein Bruch der Zellwand, so ist die Zelle zerstört (PAGÁN ET AL, 2005).

Generell sind Gram- negative Bakterien anfälliger gegenüber einer Inaktivierung durch HSI als Gram- positive Bakterien. Bakterien im Allgemeinen sind resistenter als Hefe; Sporen scheinen sehr resistent gegenüber einer Inaktivierung durch HSI. Größere Zellen sind aufgrund der Bildung eines höheren Membranpotentials anfälliger gegenüber HSI als kleinere Zellen. Daneben hat das Wachstumsstadium der Mikroorganismen einen signifikanten Einfluss auf das Inaktivierungspotential durch HSI (WOUTERS ET AL, 2001).

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. Raman- Spektroskopie

3.1.1. Absorptionseigenschaften von Carotinoiden

Die Absorptionsspektren von β -Carotin und Lutein/ Zeaxanthin sowie Lycopin sind in Abbildung 11 dargestellt. β - Carotin, Lutein und Zeaxanthin haben das gleiche Absorptionsspektrum von dem sich das Absorptionsspektrum von Lycopin unterscheidet. Da das reine Absorptionsspektrum von β - Carotin durch Lutein/ Zeaxanthin überlagert wird, soll im weiteren Verlauf stets von β - Carotin in Verbindung mit Lutein/ Zeaxanthin gesprochen werden. Es ist allerdings davon auszugehen, dass der weitaus größere Teil von β - Carotin absorbiert wird.

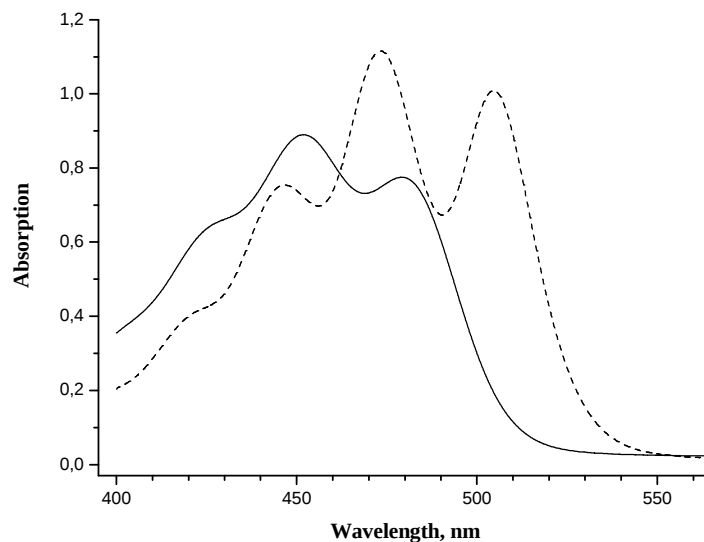


Abbildung 11: Absorptionsspektren von β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin (—) und Lycopin (---) (DARVIN ET AL, 2006)

Beide Spektren sind zueinander verschoben und weisen Absorptionsmaxima bei 488 nm und 514 nm auf, welche mit den Emissionslinien des Argonlasers übereinstimmen. Die Argon- Laserstrahlung bei 488 nm wird sowohl von β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin als auch

von Lycopin absorbiert. Im Gegensatz dazu ist die Absorption des Lycopins bei 514 nm wesentlich höher als die von β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin. Diese Absorptionsunterschiede werden im Rahmen der Signalauswertung genutzt, um zwischen den Konzentrationen von β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin zu unterscheiden. Voraussetzung hierfür ist, dass eine gleichzeitige Anregung bei 488 nm und 514 nm erfolgt. Im Rahmen der Auswertung von Lycopin (Ramanlasersignal bei 514 nm) soll ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass davon auszugehen ist, dass andere Substanzen, die ein derartiges Absorptionsspektrum aufweisen einen Einfluss von unter 30 % auf das Raman- Lasersignal bei 514 nm ausüben (DARVIN ET AL, 2006). Was nicht damit gleichzustellen ist, das möglicherweise Stoffe mit einem identischen Absorptionsspektrum existieren, die einen größeren Einfluss ausüben könnten. Da die Existenz anderer Stoffe mit identischem Absorptionsspektrum allerdings nicht bewiesen ist, stützen sich die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit auf die Annahme einer überwiegenden Lycopinabsorption bei 514 nm. Für das Carotinoid Canthaxanthin wird ein Einfluss auf das Lycopin- Signal angenommen.

3.1.2. Experimenteller Aufbau

Die simultane Anregung von β - Carotin und Lycopin erfolgt mit Hilfe eines Mehrwellenlängen- Argonlasers (Laser 2000 GmbH), welcher gleichzeitig bei 488 nm und 514 nm emittiert. Die Stärke der Laserstrahlung wurde wiederholt geeicht und war dabei durchschnittlich für 488 nm mit 18 mW und für 514 nm mit 8 mW normalisiert.

Die Strahlung wird durch eine optische Quarzfaser einem flexiblen Handstück (Eigenbau Charite) zugeführt. Mit Hilfe eines optischen Abbildungs- und Filtersystems werden die beiden Anregungswellenlängen auf die Probe projiziert. Die entstehende Raman-Strahlung kann durch ein zweites Abbildungssystem erfasst und in ein Bündel aus sechs optischen Fasern eingekoppelt werden.

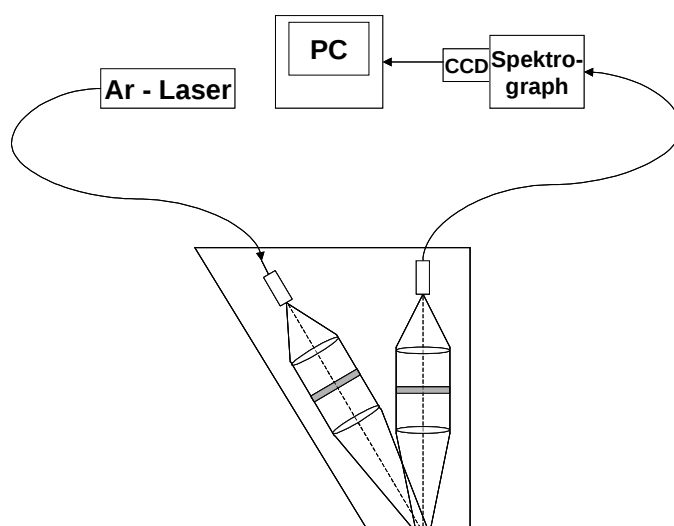


Abbildung 12: Experimenteller Versuchsaufbau

Die Signalauswertung erfolgt mit Hilfe eines Spektrometers (Horiba Jobin Yvon Frankreich, MSL TNA 2), welches mit einer CCD- Kamera [elektronische Kamera mit CCD- Chips] (Stresing GmbH, Berlin S7031-0908) verbunden ist (siehe Abbildung 12). Die Messzeit beträgt zwischen 10 und 15 Sekunden. Ein Foto des Handstückes ist in Abbildung 13 gezeigt.

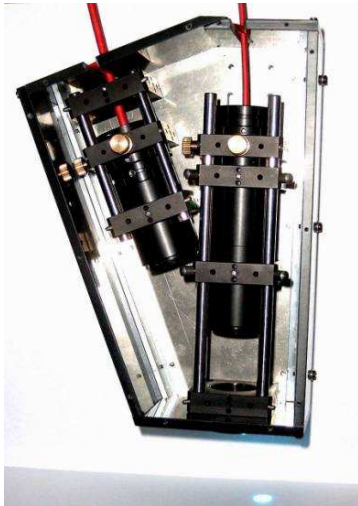


Abbildung 13: Flexibler Messkopf

3.1.3. Raman- spektroskopischer Nachweis von Carotinoiden im Eigelb

Ein typisches Raman- Signal der Eidotter besteht aus kleinen Raman- Signalen mit einem hohen Fluoreszenzuntergrund. Daher wurde ein spezielles Softwareprogramm zur Spektrenauswertung entwickelt, welches eine eindeutige Analyse der Raman- Banden von β - Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin bei 1.005 cm^{-1} , 1.156 cm^{-1} und 1.523 cm^{-1} ermöglicht.

Die Steuerung des Messsystems und die Signalauswertung erfolgen per Computer. Dazu wurde eine spezielle Software entwickelt. Nach einer Messzeit von ca. 15 Sekunden werden die aktuellen β -Carotin-/Lutein/Zeaxanthin und Lycopin- Werte als Balken graphisch dargestellt (siehe Abbildung 14).

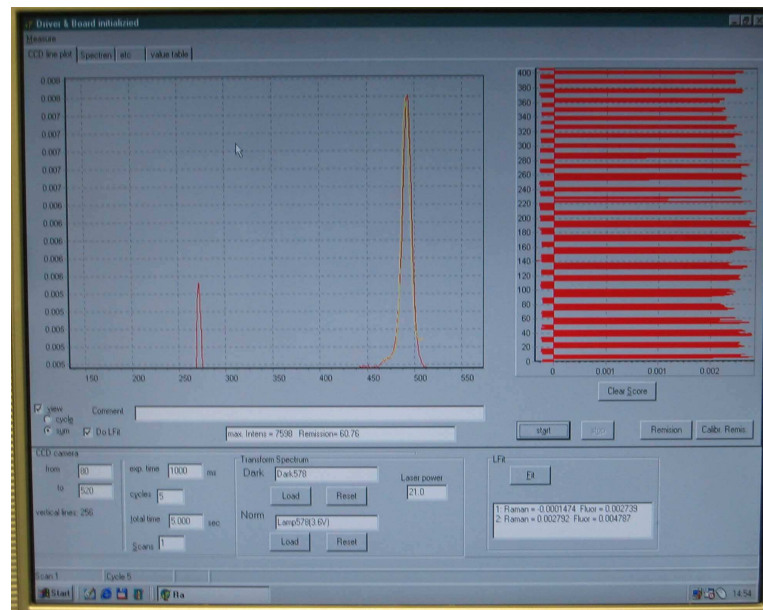


Abbildung 14: Software zur Signalauswertung, Darstellung der Messwerte

Das Eigelb wurde jeweils vollständig vom Eiweiß sowie der Eihaut getrennt, homogenisiert und in Quarzküvetten (siehe Abbildung 15) gefüllt. In diesen wurde das Eigelb gemessen. Wobei der Laser mit einem Messstrahl von 6,5 mm Durchmesser auf die Probe auftritt. So ist auf der einen Seite gewährt, dass die Messfläche homogen ausgeleuchtet wird und andererseits der Einfluss möglicher inhomogener Partikel innerhalb des Eigelbs ausgeschlossen werden kann.



Abbildung 15: Quarzküvetten mit Eigelb gefüllt

Zur statistischen Auswertung der Messwerte wurde die Software SPSS (Version 11.0) herangezogen.

3.2. Legehennen und Eier

3.2.1. Herkunft und Haltung der Legehennen

Für die Versuche standen insgesamt 14 Legehennen, der Rassen White Leghorn (4 Hennen) und schwarze Bovans (10 Hennen) zur Verfügung. Die Hühner sind zu Beginn der ersten Legeperiode mit etwa 24 Wochen gekauft worden (Geflügelhof R. Gaetke, 16775 Keller).

Die Versuche wurden bei der Gut Hesterberg Landwirtschafts GmbH (16818 Neuruppin) durchgeführt. Die Hennen waren in einem 7,5 m² Tiefstreustall (3 x 2,5 m) mit 3 Sitzstangen und 9 Legenestern aufgestellt. Dabei wurden die Hennen den gesamten Tag (6.00 Uhr – etwa 19.00 Uhr) in Auslaufhaltung gehalten. Der Auslauf war ausreichend begrünt und gewährte stets Zugang zu Grünfutter ad libitum. Daneben erhielten die Hennen eine geschrotete Getreidemischung (Gerste: Weizen, 3:7) und Wasser, ebenfalls ad libitum.

In den Stallhaltungsperioden wurden die Hennen in einem 18 m² (4 m x 4,5 m) großen Tiefstreustall mit 9 Legenestern gehalten. Es wurde kein Grünfutter gefüttert, die Fütterung von Getreide erfolgte ebenfalls in dem Verhältnis 3:7 (Gerste und Weizen). Der Licht- und Dunkelzyklus folgte jeweils den natürlichen Bedingungen.

3.2.2. Herkunft der Eier

Zur Gewährleistung einer sicheren Vergleichbarkeit wurden für die Versuche zum gleichen Anteil gekaufte Eier herangezogen. Es wurden Eier aus Käfighaltung und ökologische Eier in den Verbrauchermarkt Extra (Naturkost, Grünes Land) gekauft.

Desweiteren wurden im Rahmen der Versuche zu den Auswirkungen der Haltungsverfahren 80 Eier von der Landkost GmbH (Bestensee) zur Verfügung gestellt (Mai 2005). Diese Eier stammten von Tieren der Hybridzuchtlinien (Zuchtunternehmen): Bovans GL (Hendrix Poultry Breedes BV), Lohmann Brown, LB und HY Line w 36 (Lohmann Tierzucht). Es wurden Eier von Legehennen aus (konventioneller) Freilandhaltung, Bodenhaltung, Kotbunkerhaltung (Tiefstreustall) und Käfighaltung zur Verfügung gestellt.

Alle gekauften Eier stammten aus Deutschland. Bei Eiern aus ökologischer Haltung konnte sichergestellt werden, dass die Hennen nach der EG- Ökoverordnung; VO (EWG) 2092/91 gehalten wurden.

3.3. Versuchsaufbau und Durchführung

3.3.1. Struktureller Versuchsaufbau

Parallel zum Produktlebenszyklus von Eiern (Eiprodukten) erfolgten die Versuche in den Bereichen Landwirtschaft, Lebensmitteltechnologie und Verbraucher/Konsumentenbereich. Im Bereich Landwirtschaft wurde die Untersuchung zur Auswirkung von Haltung, Fütterung, Rasse und im allgemeinen des Carotinoidmetabolismus von Legehennen forciert. Versuchsschwerpunkt in diesem Bereich war der Vergleich des Gehalts von Carotinoiden in konventionellen und ökologischen Eiern.

Im Rahmen der lebensmitteltechnologischen Versuche wurde zum einen die Lagerung von Eiern und Eiprodukten und zum anderen die Konservierung von Eiern und Eiprodukten betrachtet.

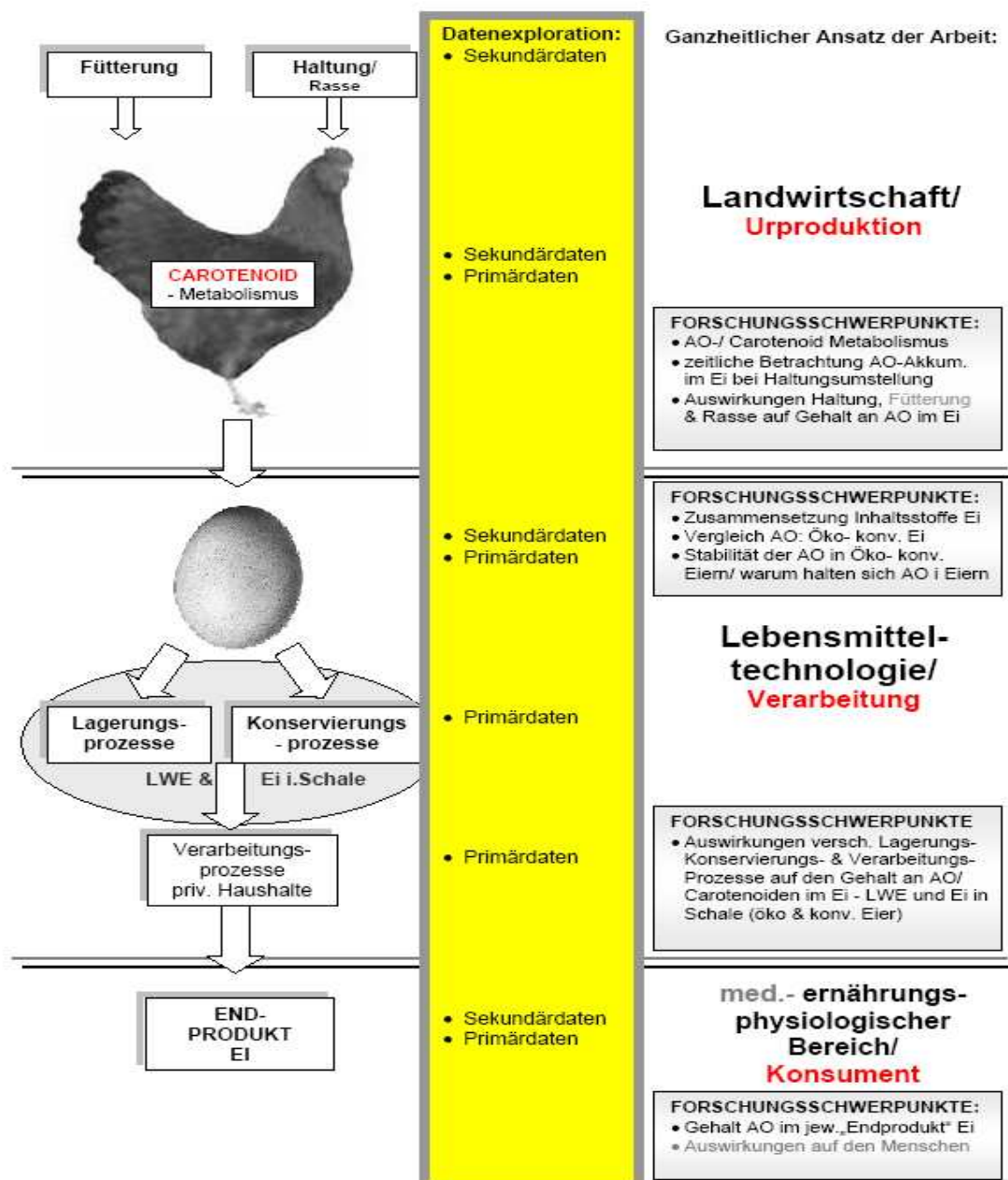


Abbildung 16: Struktureller Aufbau der Versuche

Im Bereich Verbraucher/ Konsument wurden Auswirkungen der Verarbeitungsprozesse, die am Ende des Produktlebenszyklus des Eies stehen (Kochen von Eiern, Rührei), auf den Gehalt an Carotinoiden untersucht. Abschließend wurden mögliche Effekte auf den Gehalt von Carotinoiden in der menschlichen Haut durch Konsum von Eiern exemplarisch überprüft.

Abbildung 16 zeigt den strukturellen Aufbau der Arbeit in der Übersicht. Zu bemerken ist, dass hier ebenfalls die Verarbeitung von Sekundärdaten zur Vervollständigung der eigenen Datenexploration aufgeführt ist. Diese sind bereits in Kapitel 2 (Literaturübersicht) abgehandelt.

Die Versuche wurden von September 2004 bis Februar 2006 durchgeführt. Insgesamt wurden 535 Eier und 4,75 l Flüssigeier (Eigelb) untersucht.

3.3.2. Vergleich von ökologischen und konventionellen Eiern

Für den Vergleich des Gehalts von Carotinoiden in ökologischen und aus Käfighaltung stammenden (konventionellen) Eiern wurden Eier gekauft bei Extra und Eier aus selbst durchgeführten Versuchen herangezogen. Mit einem Gesamtstichprobenumfang von hier $n > 100$ konnten statistisch zuverlässige Ergebnisse generiert werden.

3.3.3. Haltungsformen

Zur Identifikation der Auswirkung von Haltungsformen auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei wurden innerhalb der konventionellen Legehennenhaltung aus den Haltungsformen Käfig-, Boden-, Kotbunker- und Volierenhaltung jeweils 20 Eier von der Landkost GmbH Bestensee untersucht. Die Eier stammten von Hühnern, die in der 33- 46 Legewoche waren.

3.3.4. Carotinoid- Metabolismus

Die ernährungsphysiologische Versuchsreihe zum Carotinoid Metabolismus wurde mit Versuchshühnern durchgeführt. Eier von 2 Legehennen wurden über einen Zeitraum von 9 Monaten (Mai 2005 bis Januar 2006) kontinuierlich untersucht. Dabei wurden die Hennen wiederholt Stallhaltungs- und Freilandhaltungsperioden (siehe Kapitel 3.2.1. Herkunft und Haltung der Legehennen) ausgesetzt.

Einen schematischen Überblick über die Stall- und Freilandperioden innerhalb dieser Versuchsreihe gibt Abbildung 17 wieder.

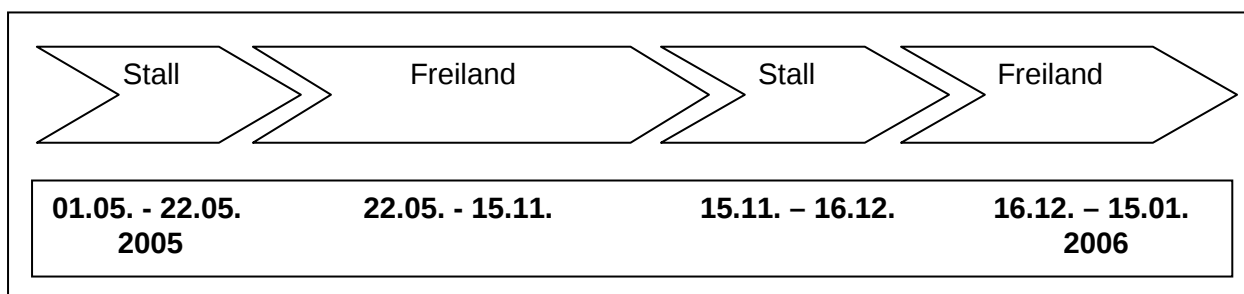


Abbildung 17: Überblick über die Stall- und Freilandperioden der ernährungsphysiologischen Versuchsreihe zum Carotinoid- Metabolismus

3.3.5. Lagerungsverfahren

Die Versuche zu den Lagerungsverfahren wurden mit gekauften Ökoeiern vom Verbrauchermarkt Extra durchgeführt.

Die Eier bzw. Flüssigeier wurden 12 Wochen unter differierenden Lagerungsbedingungen gelagert, um eventuelle Auswirkungen der Lagerungsdauer auf den Gehalt an Carotinoiden zu identifizieren. Dabei wurden Schaleneier gekühlt, bei Raumtemperatur (mit und ohne Licht) und unter Stickstoffatmosphäre jeweils 3 Monate gelagert. Wöchentlich wurden 2 Eier entnommen und gemessen. Zur Untersuchung der Flüssigeier wurde unbehandeltes flüssiges Eigelb bei 4 C° 8 Wochen gelagert und jeweils wöchentlich gemessen.

Eine schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der Lagerungsprozesse ist in Abbildung 18 zu finden.

Zur Illustration der Bedeutung der Untersuchung des Einflusses der zeitlichen Dimension auf den Gehalt von Carotinoiden im Ei sollen die Ergebnisse von LIN ET AL (2005) herangezogen werden, die den Gehalt von Carotinoiden während der Lagerung von Tomatensaft untersucht haben. Dabei sinkt der Gehalt von Lutein bei Lagerung ohne Licht und 4 C° rapide ab und ist bereits nach 5 Wochen nicht mehr vorhanden. Für β -Carotin gilt bei gleichen Bedingungen (nach 12 Wochen) eine Reduzierung des Gehalts auf 1/3 des Ausgangsniveaus und für Lycopin eine Reduzierung auf 1/4 des Ausgangsniveaus. Eine Lagerungsstabilität von Carotinoiden kann vor diesem Hintergrund nicht selbstverständlich angenommen werden. Allerdings ist anzumerken, dass der Tomatensaft durch starkes Erhitzen (bei 82 C° Aufschluss der Tomaten, danach Erhitzung auf 121 C° für 40 s) hergestellt wurde.

3.3.6. Konservierungsverfahren

Die Konservierungsversuche wurden mit gekauften Ökoeiern (nach VO (EWG) 2092/91) aus dem Verbrauchermarkt Extra durchgeführt, wobei vorher durch Untersuchung bestätigt wurde, dass es sich tatsächlich um Eier handelt, die ein hohes (ökologisches) Carotinoidniveau aufweisen.

In Kapitel 2.6 (Lebensmitteltechnologische Grundlagen) wurde beschrieben, dass Eier und Eiprodukte nicht mehr nur ausschließlich durch Pasteurisierung konserviert werden. Mehrere innovative Methoden wurden entwickelt, die viel versprechend im Rahmen einer Nährstoff- und Matrixschonenden Konservierung angewendet werden.

Abbildung 18 zeigt den schematischen Aufbau der Versuchsreihe Konservierungsprozesse.

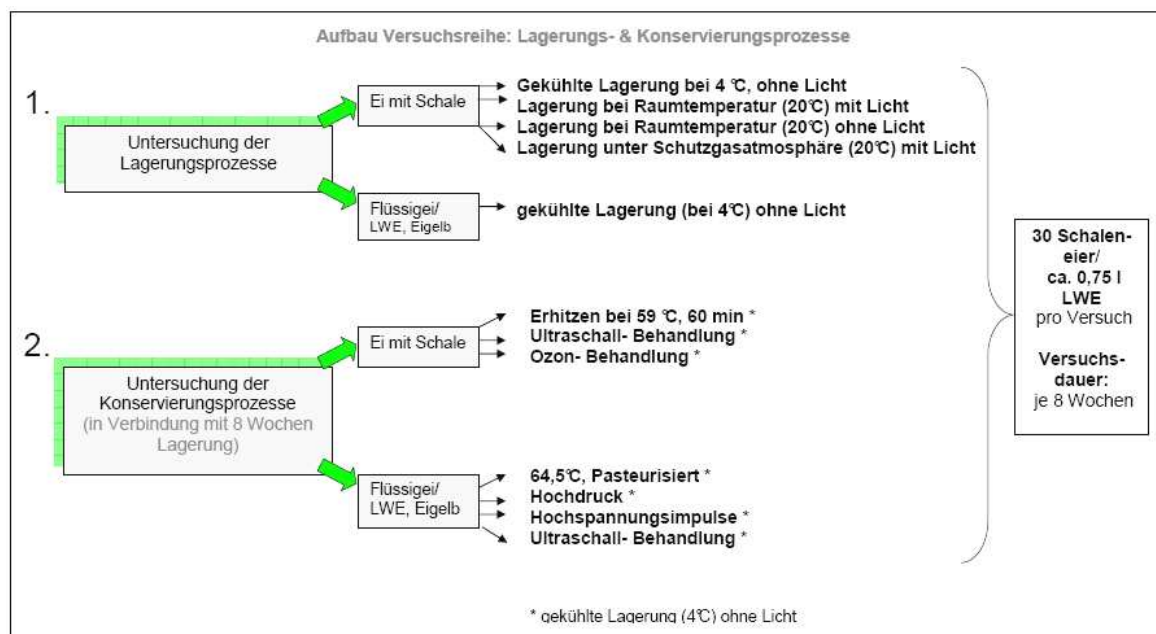


Abbildung 18: Aufbau Lagerungs- und Konservierungsprozesse

Es wurden thermische (Pasteurisierung) und nicht- thermische (Ozon, Ultraschall, Hochdruck und Hochspannungsimpulse) Verfahren zur Konservierung angewendet. Zur Konservierung von Schaleeiern konnten die Pasteurisierung, die Ultraschall- Behandlung und die Ozon- Behandlung (Waschen mit ozonisiertem Wasser) angewendet werden. Zur Konservierung von Flüssigeiern schien die Untersuchung folgender Methoden sinnvoll: Pasteurisierung, Hochdruck, Hochspannungsimpulse und Ultraschall- Behandlung.

Die Eier bzw. Flüssigeier wurden (bis auf eine Nullprobe) den o.g. Behandlungen unterzogen, danach wurde unverzüglich der Gehalt an Carotinoiden gemessen. Desweiteren wurden die Eier/ Flüssigeier einer anschließenden 8-wöchigen Lagerung (ohne Licht, bei 4 °C) unterzogen. Wöchentlich wurden 2 Eier gemessen.

Die Ausgangskeimzahlen sind in Tabelle 8 dargestellt und weisen ein allgemein geringes Niveau auf. Die erhöhte Keimzahl (KBE) nach der Ultraschall- Behandlung der Flüssigeier gegenüber der Nullprobe kann auf der einen Seite auf mögliche Keimzahlerhöhungen während der Ultraschallbehandlung zurückgeführt werden (siehe Temperaturanstieg von 18,5 C°) und auf der anderen Seite auf Probenspezifische Differenzen.

Tabelle 8: Ausgangskeimzahlen der Konservierungsverfahren

Verfahren	Ausgangs- keimzahlen
Flüssigei	KBE
Nullprobe	$8,0 \times 10^9$ g
Ultraschall- Behandlung	$5,6 \times 10^1$ g
Pasteurisierung	$< 2 \times 10^9$ g
Hochspannungsimpulse	$< 2 \times 10^9$ g
Hochdruck	$< 2 \times 10^9$ g
Schalenei	
Ozon	$3,6 \times 10^5$ g

3.3.7. Verarbeitungsverfahren

Im Rahmen der Versuchsreihe Verarbeitungsverfahren sind die Experimente auf die Verarbeitungsverfahren privater Haushalte begrenzt worden.

Es wurde das Kochen von Eiern und das Braten von Rühreiern untersucht, wozu gekaufte ökologische Eier aus dem Verbrauchermarkt Extra herangezogen wurden.

3.3.8. Nichtinvasive Online-Messungen in der menschlichen Haut

In den letzten Jahren gab es eine Reihe von Versuchen, Antioxidantien, speziell β - Carotin und Lycopin, mit optischen Methoden nichtinvasiv und online nachzuweisen. Neben Remissionsmessungen haben sich Raman- spektroskopische Messungen besonders bewährt. Die Resonanz- Raman- Spektroskopie stellt eine selektive und hochempfindliche Untersuchungsmethode dar (DARWIN ET AL, 2006).

Die Untersuchungen am Menschen wurden mit dem oben beschriebenen Messaufbau durchgeführt. Dabei dringt die Raman- Strahlung nur ca. 200 μ m tief in die Haut ein, so dass die Blutgefäße nicht erreicht werden. Somit ist sichergestellt, dass sich die

gemessenen Konzentrationen tatsächlich auf die in der Haut und nicht auf die im Blut beziehen.

Der Messkopf des spektroskopischen Systems ist über Lichtleitfasern mit dem Argonlaser und einem Spektrometer verbunden, so dass jede Körperstelle erreicht und analysiert werden kann.

Da die Hautpigmentierung innerhalb einer kleinen Oberfläche schwankt, wurde ein Durchmesser von 6,5 mm für den Messstrahl gewählt, so dass auf der einen Seite die Messfläche homogen ausgeleuchtet und andererseits der Einfluss möglicher inhomogener Hautpigmentierungen ausgeschlossen werden kann.

Die Untersuchungen zum Nachweis einer Anreicherung von Carotinoiden in der Haut, welche mit ökologischen Eiern aufgenommen wurden, wurden im Rahmen einer Pilotstudie an 5 Probanden durchgeführt. Dazu haben die Probanden an 5 aufeinander folgenden Tagen jeweils 2 Eier verzehrt. Die Carotinoidwerte der Probanden wurden täglich am Handballen und der Stirn gemessen. Die Langzeit- Carotinoidwerte dieser Probanden sind aus anderen Studien bekannt.

3.4. Lebensmitteltechnologische Konservierungsprozesse

Die Konservierung der Schalen- und Flüssigeier wurde im Fachgebiet Lebensmittelbiotechnologie- und prozesstechnik (TU-Berlin) in Dahlem durchgeführt.

3.4.1. Pasteurisierung Schalen- und Flüssigeier

Die Pasteurisierung der Eier (mit Schale) wurde in einem Wasserbad bei 59 C° für 60 min durchgeführt.

Zur Pasteurisierung der Flüssigeier wurden jeweils 100 ml der Flüssigeier (ausschließlich Eigelb) in einer Blechdose auf einen Schüttler ins Wasserbad gestellt. Nach dem Erreichen einer Temperatur von 63 C° wurde die Behandlung für 2,5 min fortgeführt, danach wurden die Flüssigeier durch Eis heruntergekühlt.

3.4.2. Ultraschall Behandlung Schalen- und Flüssigeier

Die Ultraschall- Behandlung der Eier wurde in einem Ultraschallbad (Typ: Sonorex RK 100, Bandelin Electronic KG) für 10 min bei 105 Watt mit einer Frequenz von 35 kHz durchgeführt.

Dabei wurde ein Temperaturanstieg von 5,2 C° (Ausgangstemperatur: 20,3 C°; Endtemperatur: 25,5 C°).

Die Ultraschall- Behandlung der Flüssigeier (Eigelb) fand wiederum in einer Blechdose statt. Durch eine Sonotrode (UIP 1000; Dr. Hielscher GmbH) wurden Ultraschallwellen für 10 min bei 235 Watt emittiert.

Mit einer Ausgangstemperatur von 19 C° und einer Endtemperatur von 37,5C° war ein prozessbedingter Temperaturanstieg von 18,5 C° zu beobachten.



Abbildung 19: Ultraschall Sonotrode und Generator (UIP 1000; Dr. Hielscher GmbH)

3.4.3. Ozon- Behandlung Schaleneier

Die Ozon- Behandlung der Eier ist im Leibniz- Institut für Agrartechnik Potsdam- Bornim e.V. durchgeführt worden. Die Eier sind in einem Wasserbad für 5 min mit ozonisiertem Wasser (3 ppm O₃) bei einer Temperatur von 8 C° behandelt worden.

Dazu wurde das Wasser solange in einem Kreislauf zwischen Wassertank und dem angeschlossenen Ozongenerator (Legiomed, BWT, Deutschland; Leistung: 2 g Ozon/h, Wassermwälzleistung: 1000 l/h) geführt, bis die Zielkonzentration von Ozon erreicht war.

3.4.4. Hochdruck- Behandlung Flüssigeier

Zur Hochdruck- Behandlung wurden jeweils 200 ml Eigelb in zylinderförmige Plastikbeutel verschweißt. Bei einer Prozesstemperatur von 5 C° wurde das Eigelb 10 min einem Druck von 250 MPa ausgesetzt. Dabei kam es zu einer adiabatischen Erwärmung von 4 C° auf

insgesamt 9 C°. Der schematische Aufbau des Hochdruckbehälters (Uhde, Hochdrucktechnik GmbH) ist in Abbildung 20 zu finden.

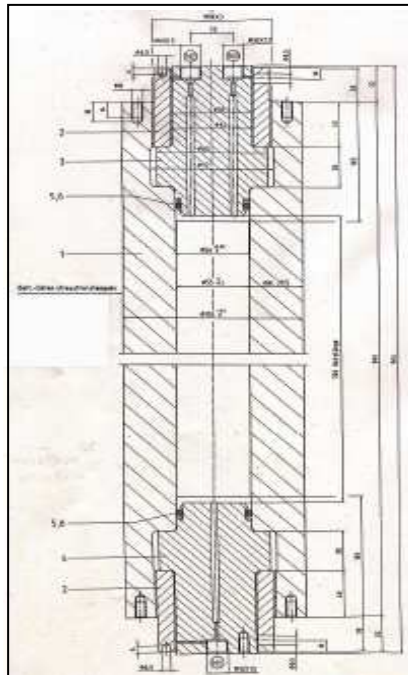


Abbildung 20: Aufbau des Hochdruckbehälters (Uhde Hochdrucktechnik GmbH)

3.4.5. Hochspannungsimpulsbehandlung Flüssigeier

Zur Hochspannungsimpulsbehandlung wurden die Flüssigeier bei einer Frequenz von 5 Hz behandelt. Der Durchfluss durch die Behandlungszelle betrug 6 l/h. Die Eintrittstemperatur der Flüssigeier war 21 C°, die Austrittstemperatur 25 C°. Mit einer Feldstärke von 21 kV/ cm ist ein Energieeintrag von 13 kJ/ kg erfolgt.

Der schematische Versuchsaufbau ist in Abbildung 21 zu finden.

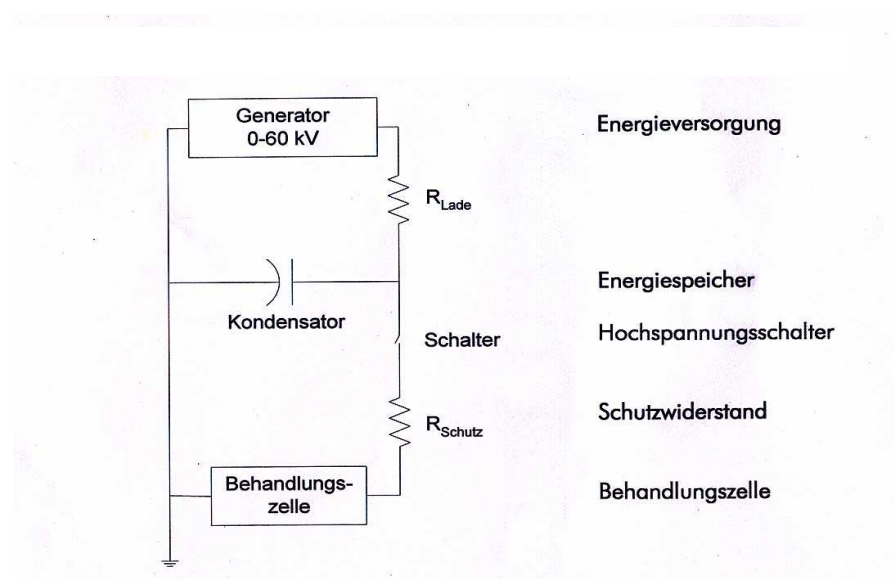


Abbildung 21: Versuchsaufbau Hochspannungsimpulse

4. ERGEBNISSE & DISKUSSION

4.1. Eichung

Eigelb in unterschiedlichen Konzentrationen in wässriger Lösung wurde homogenisiert und mittels Raman- Spektroskopie gemessen. Das Verhältnis des Raman- Lasersignals unter Anregung bei 488 nm zu den jeweiligen Eigelblösungen ist in Abbildung 22 dargestellt.

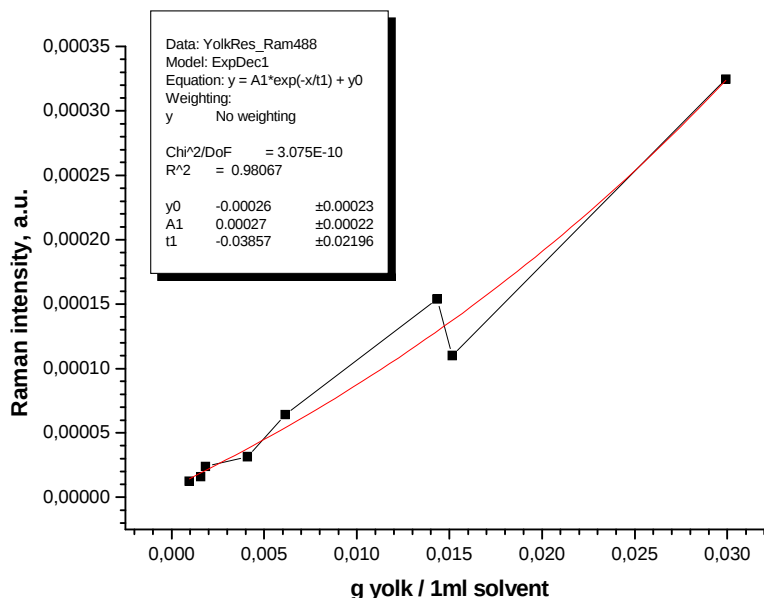


Abbildung 22: Zusammenhang zwischen Raman- Lasersignal und der Konzentration von Eigelb (konventionelles Ei) in wässriger Lösung unter Anregung bei 488 nm

Identische Raman- Laser Messungen sind für β - Carotin in Lösung (in Ethanol und Wasser, 2:8) unter Anregung bei 488 nm vollzogen worden. Dieser Zusammenhang ist aus Abbildung 23 ersichtlich.

Zur Vermeidung von Reabsorptions- Überlagerungen der Raman- Laser Messungen sind geringe Konzentrationen, ein schwaches Raman- Lasersignal zur Eichung des linearen Zusammenhang herangezogen worden.

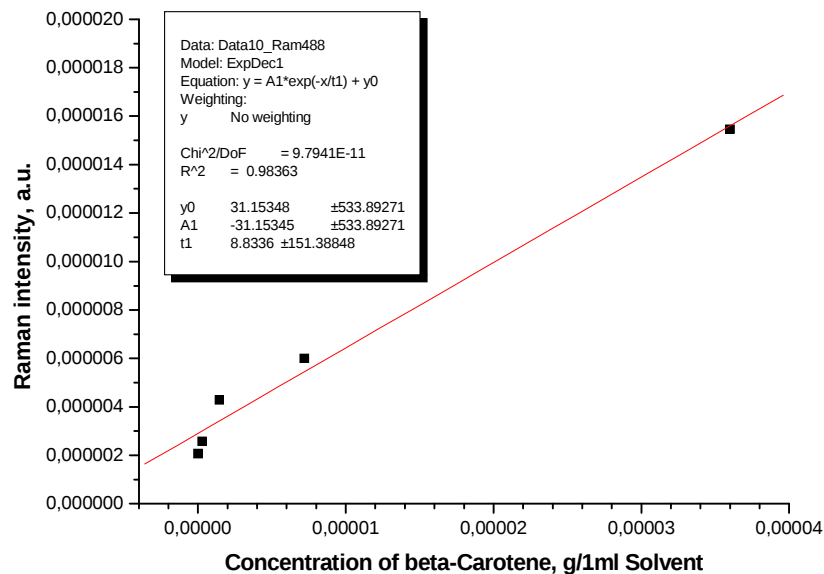


Abbildung 23: Zusammenhang zwischen Raman- Lasersignal und der Konzentration von β - Carotin in Lösung (Ethanol und Wasser, 2:8) unter Anregung bei 488 nm

:

Dazu sind die Konzentrationen von β - Carotin in Lösung und Eigelb (konventionelles Ei) bei einem Raman- Lasersignal von 0,00005 verglichen worden. Aus den Abbildungen wird ersichtlich, dass (vergl. Raman- Lasersignal 0,00005) 0,00558 g Eigelb/ 1 ml wässriger Lösung genau 0,5897 μ g β Carotin/ 1 ml Lösung entsprechen. Das entspricht einer Konzentration von 106 μ g Carotinoiden/ g Eigelb für konventionelle Eier.

Aus der Literatur ist bekannt, dass die vorherrschenden Carotinoide im Eigelb Lutein, Zeaxanthin (und β - Carotin) sind. Andere Carotinoide, wie z.B. Canthaxanthin und β - Cryptoxanthin, sind in Spuren gemessen worden.

Die Raman- Laser Messungen unter einer Anregung von 514 nm (siehe Kapitel 3.1.1.) zeigen möglicherweise das Vorhandensein von Lycopin im Eigelb. Im Vergleich zu anderen Carotinoiden ist Lycopin nicht derart stabil (hier ist nicht die Hitzestabilität angesprochen). Hierin kann unter Umständen der Grund liegen, dass Lycopin bisher noch nicht oder nur in Spuren im Eigelb nachgewiesen wurde. Bisher wurden für den Nachweis von Carotinoiden HPLC- Messungen eingesetzt, die unter Verwendung von aktiven chemischen Lösungen (Ethanol, Hexan, Chloroform) Lycopin bereits vor einer möglichen Messung vermutlich zerstört haben.

Vor dem Hintergrund einer vorwiegenden Absorption von Lycopin (und Canthaxanthin) unter einer Anregung von 514 nm, wird angenommen, dass Lycopin im Eigelb vorhanden ist. Der Einfluss anderer Carotinoide die ebenfalls bei einem Raman- Lasersignal von 514 nm absorbieren liegt unter 30 %. Statistisch ist das durchschnittliche Verhältnis des Raman- Signals von 488 nm und 514 nm 1,45. Vor diesem Hintergrund liegt die

durchschnittliche Konzentration von Lycopin und Canthaxanthin bei 50 µg/ g Eigelb für konventionelle Eier.

4.2. Effekte der landwirtschaftlichen Produktion auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei

4.2.1. Auswirkungen verschiedener Haltungsformen von Legehennen auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei

4.2.1.1. Vergleich von Eiern aus ökologischer und konventioneller Legehennenhaltung

Zunächst wurden vor dem Hintergrund eines umfassenden Vergleichs eine große Anzahl von Eiern aus ökologischer und konventioneller Haltung gemessen. Im Rahmen der Versuche wurden insgesamt 140 Eier aus konventioneller Haltung und 395 Eier aus ökologischer Haltung untersucht. Dabei wurde stets das in Abbildung 23 dargestellte Bild bestätigt: die Eier von ökologisch gehaltenen Legehennen weisen einen signifikant höheren Gehalt an β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin (Signal bei 488 nm) und Lycopin (Signal bei 514 nm) auf.

Wiederholt soll darauf hingewiesen werden, dass die ökologischen Eier von Legehennen stammen, die nach der VO (EWG) 2092/61 gehalten werden. Die ökologische Geflügelhaltung ist die einzige Haltungsform, die die Freilandhaltung in folgender Form vorschreibt: „B 8.4.1. Geflügel muss in traditioneller Auslaufhaltung und darf nicht in Käfigen gehalten werden.B 8.4.5. ...Diese Auslaufflächen müssen größtenteils Pflanzenbewuchs aufweisen und mit Schutzvorrichtungen versehen sein.“

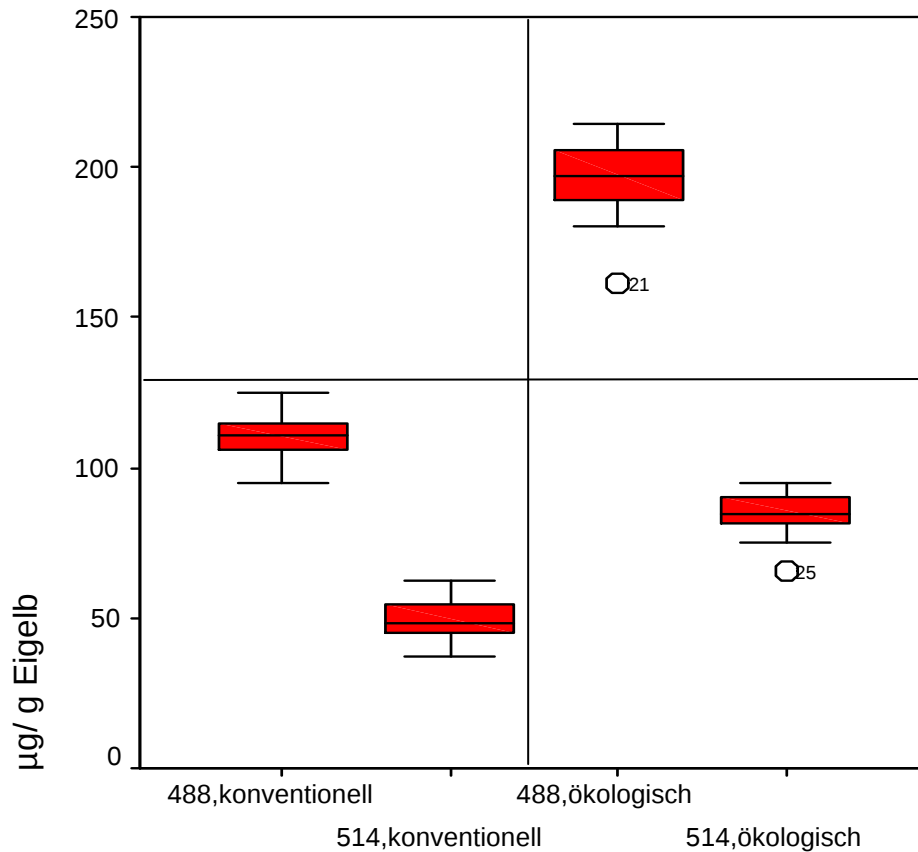


Abbildung 24: Darstellung der Werte ($\mu\text{g/g}$ Eigelb) von ökologischen und konventionellen Eiern; Box and Whisker Plot (488 nm: β -Carotin, Lutein/ Zeaxanthin, 514 nm: Lycopin) $n = 26$ (gekaufte Eier)

Zur übersichtlicheren Darstellung wurden in Abbildung 24 die tatsächlich beobachteten Werte (Box and Whisker Plot) gewählt. Die statistischen Werte sind in Tabelle 9 aufgeführt, wobei mittels t- Test ein signifikanter Unterschied des Gehalts an β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin sowie auch Lycopin zwischen konventionellen und ökologischen Eiern bestätigt wurde.

Das allgemeine Niveau (Mittelwert für $n = 26$) der ökologischen Eier liegt für β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin bei $195,98 \mu\text{g/g}$ Eigelb und für Lycopin bei $84,76 \mu\text{g/g}$ Eigelb. Es kann bestätigt werden, dass sich dieses Niveau für alle Versuche nahezu konform war. Die Werte der ökologischen Eier waren außerhalb der Vegetationsperiode (Winter) geringfügig niedriger als in der Vegetationsperiode (siehe Kapitel 4.2.2.2. Ernährungspysiologische Versuchsreihe). Die Werte der konventionellen Eier haben sich stets auf dem gleichen Niveau bewegt.

Tabelle 9: Statistische Werte ($\mu\text{g/g}$ Eigelb) von ökologischen und konventionellen Eiern, hier $n = 26$

Descriptive Statistics						
Variables	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Variance
488,konventionell	26	95,211555	124,8444	110,3614	7,060563737	49,852
514,konventionell	26	37,038889	62,138889	49,89573	6,017819939	36,214
488,ökologisch	26	161,1671	214,7089	195,9858	12,304415179	151,399
514,ökologisch	26	65,291667	95,194444	84,76068	6,898878619	47,595
Valid N (listwise)	26					

Table Caption

Mit Variationskoeffizienten von 6% (β - Carotin/Lutein/Zeaxanthin Öko- und konventionelle Eier), 8 % (Lycopin Ökoeier) und 12 % (Lycopin konventionelle Eier) kann die Aussagefähigkeit und Messgenauigkeit der Raman- spektroskopischen Messmethodik im Zuge einer Anwendung bei Eiern/ Eigelb wiederholt bestätigt werden.

Zur Gewährleistung einer sicheren Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurden die Werte der Eier aus den selbstdurchgeführten Versuchen mit den Werten von gekauften Eiern verglichen. Im Folgenden werden zur Visualisierung die einzelnen beobachteten Werte abgebildet (siehe Abbildung 25).

Bei der vergleichenden Betrachtung von gekauften ($n = 30$) und im Rahmen eigener Versuche erzeugten Ökoeiern ($n = 38$) wird zwar eine größere Varianz bei der Betrachtung der Eier aus eigenen Versuchen ($s_{488} = 603,92$; Varianz gekaufte Eier $s_{488} = 105,21$) ersichtlich, ein statistischer Mittelwertvergleich (t- Test) aber bestätigt keinen signifikanten Unterschied der beiden Stichproben.

Die größere Varianz lässt sich plausibel durch die Einbeziehung der zeitlichen Dimension erklären; die Eier aus den eigenen Versuchen sind von Juni bis Oktober gelegt worden, die gekauften Eier entweder am 01.09. oder am 14.10. Die Ergebnisse sind in Abbildung 24 dargestellt.

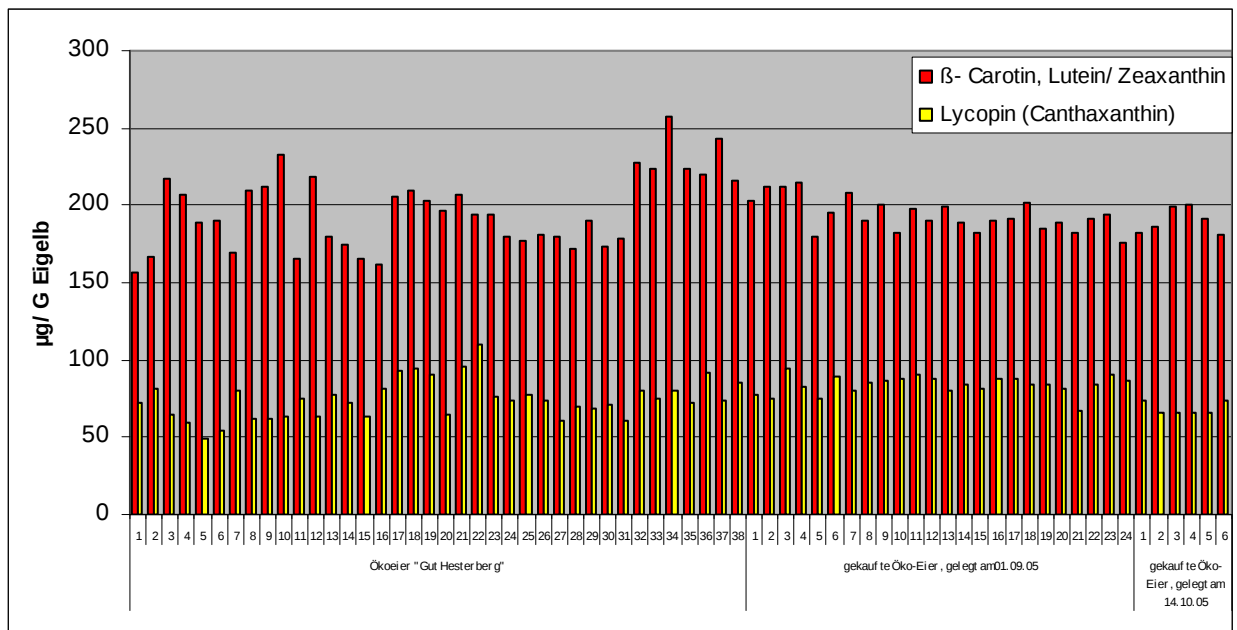


Abbildung 25: Gegenüberstellung der ökologischen Eier aus selbst durchgeführten Experimenten ($m_{488} = 196,51 \mu\text{g/g}$ Eigelb) und der gekauften Ökoeier ($m_{488} = 193,26 \mu\text{g/g}$ Eigelb); $n_{\text{ges}} = 68$

Im Zuge des Vergleiches von konventionellen gekauften Eiern ($n = 20$) und Eiern aus den eigenen Versuchen (während der Stallhaltungsperiode; hier $n = 10$) ergibt sich dasselbe Bild auf einem niedrigeren Niveau: der Mittelwert der β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthinwerte der Eier aus der eigenen Stallhaltung liegt bei $m = 109,09 \mu\text{g/g}$ Eigelb, der Mittelwert der gekauften Eier liegt bei $m = 110,74 \mu\text{g/g}$ Eigelb. Für Lycopin gilt; Mittelwert gekauft $m = 50,73 \mu\text{g/g}$ Eigelb und Mittelwert eigene Eier $m = 47,11 \mu\text{g/g}$ Eigelb. Aus diesen Werten wird leicht ersichtlich, dass auch mittels t- Test kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Stichproben ermittelt werden konnte. (Die Abbildung der beschriebenen Werte ist im Anhang zu finden).

Die Ermittlung der Kongruenz der Gehalte an Carotinoiden der Eier aus eigenen Versuchen im Vergleich zu gekauften Eiern, war vor dem Hintergrund einer ausreichenden Reproduzierbarkeit sowie Aussagefähigkeit der ernährungsphysiologischen Versuchsreihe (Kapitel 4.2.2.2.) von besonderer Bedeutung.

Abschließend soll der mögliche Einwand, nicht die ökologischen Haltungsbedingungen determinieren den Gehalt an Carotinoiden im Eigelb, sondern die Fütterung (Grünfütterung) sei der ausschlaggebende Faktor mit folgender Tatsache vorweggenommen werden:

tatsächlich ist die Aufnahme von Grünfutter *die* Quelle für die Aufnahme von Carotinoiden. Aber sicher ist auch, dass die ökologische Haltung gleichsam als Marker für die Verfütterung von Grünfutter angesehen werden kann, denn sie ist die einzige Haltungsform, in der der Zugang zu bewachsenen Grünflächen vorgeschrieben ist. Und weiter kann dem Einwand, man könne auch konventionell gehaltene Hühner mit Grünfutter zufüttern, mit der Tatsache widersprochen werden, dass es im Ernährungsverhalten von Hühnern verankert ist, Grünfutter nicht explizit zu fressen, sondern dies bei der stundenlangen pickenden Nahrungsaufnahme während des Tages beiläufig aufgenommen wird. Ein Käfighuhn würde auch bei Angebot von Grünfutter ad libitum dieses nicht in –für eine Carotinoidanreicherung im Eigelb- ausreichendem Maße aufnehmen.

4.2.1.2. Konventionelle Legehennenhaltung

Zur Vervollständigung der Fakten soll nachfolgend die Situation innerhalb der konventionellen Legehennenhaltung beleuchtet werden. Dazu sind Eier (Landkost GmbH, Bestensee) aus Volieren-, Kotbunker (Tiefstreustall), Käfig- und Freilandhaltung (jeweils n = 20) untersucht worden. Aus Abbildung 26 wird ersichtlich, dass sich die dargestellten Werte auf dem bereits bekannten Niveau der konventionellen Eier (von etwa 110,36 µg/ g Eigelb β- Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und 49,89 µg/ g Eigelb Lycopin) bewegen.

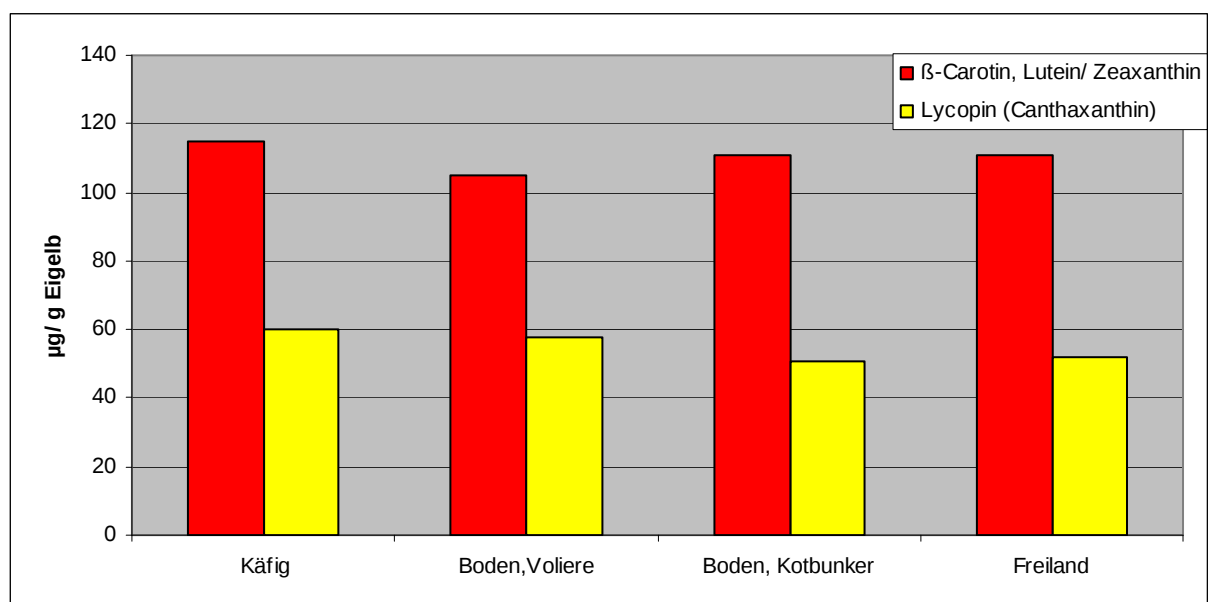


Abbildung 26: Mittelwerte des Raman- Lasersignals von β- Carotin/Lutein /Zeaxanthin und Lycopin verschiedener Haltungsformen innerhalb der konventionellen Legehennenhaltung, je n = 20

Tabelle 10 gibt zusammenfassend die Ergebnisse des t- Tests (Mittelwertvergleich; alle Stichproben einzeln gegeneinander getestet) wieder. Die β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthinwerte unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, dies gilt für alle eingeschlossenen Haltungsverfahren.

Im Rahmen der Betrachtung der Lycopinwerte konnte allerdings ein signifikanter, wenn auch sehr geringer Unterschied der Werte der Käfig- und Volierenhaltung gegenüber den Werten der Eier aus Tiefstreu- und Freilandhaltung ermittelt werden. Nach Einbeziehung mehrerer Determinanten liegt der Schluss nahe, dass es sich hierbei um eine Auswirkung verschiedener Futtermittel handeln könnte. Die Legehennen in Käfig- und Volierenhaltung werden mit einer anderen Futtermittelmischung (LE) gefüttert, als die Hennen in Tiefstreu- (LC- Deuka) und Freilandhaltung (LM- Goldhorn). Prognostiziert wird, dass die Getreideanteile in den jeweiligen Futtermittelmischungen differieren woraus sich, wenn auch nur auf sehr geringem Niveau, Unterschiede des Lycopinsignals ergeben könnten. Schlussfolgerungen ausgehend von derartig geringen Differenzen im Carotinoidniveau sollen nicht getroffen werden.

Tabelle 10: Statistische Werte und Ergebnisse aus „One Sample T- Test“ bzw. einfaktorielle ANOVA (** jeweils 1 Stichprobe wird gegen 1 andere getestet) der Haltungsverfahren innerhalb der konventionellen Haltung- Ergebnisse, $\mu\text{g/g}$ Eigelb

Descriptive Statistics							
	N	Minimum	Maximum	Mean		Std. Deviation	t-Test
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Statistic
488 nm,Käfig	20	84,234667	150,590667	114,6802221	2,181455	16,89747832	keine sign.D.
488nm,Voliere	20	86,354667	123,525333	104,7315332	1,287818	9,975392614	keine sign.D.
488nm,Kotbunker	20	95,046666	125,433332	110,7429101	1,007659	7,805291780	keine sign.D.
488nm,Freiland	20	96,318667	122,960000	111,0667999	1,022548	7,920624247	keine sign.D.
514 nm, Käfig A	20	45,083333	87,208333	60,26388879	1,757806	13,61590722	sign zu C & D
514nm,Voliere B	20	43,833333	98,791667	57,69513880	2,231434	17,28461155	sign zu C & D
514nm,Kotbunker C	20	42,875000	62,500000	50,73055547	,74393042	5,762460221	sign zu A & B
514nm,Freiland D	20	45,250000	58,708333	52,02777769	,53447866	4,140053894	sign zu A & B
Valid N (listwise)	20						

4.2.2. Auswirkungen des Carotinoid- Metabolismus von Legehennen auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei

4.2.2.1. Rassespezifische Betrachtungen

Um mögliche Auswirkungen verschiedener Rassen auf den Carotinoid- Metabolismus zu identifizieren, wurden exemplarisch zwei Hybridzuchtlinien aus konventioneller Haltung (Bodenhaltung) sowie zwei Zuchtlinien aus ökologischer Haltung verglichen. Vorweggenommen werden kann die naheliegende Vermutung, dass zwischen den einzelnen Hybridzuchtlinien nur geringe Unterschiede festzustellen sind, die sich nicht kennzeichnend auf den Carotinoid- Metabolismus auswirken.

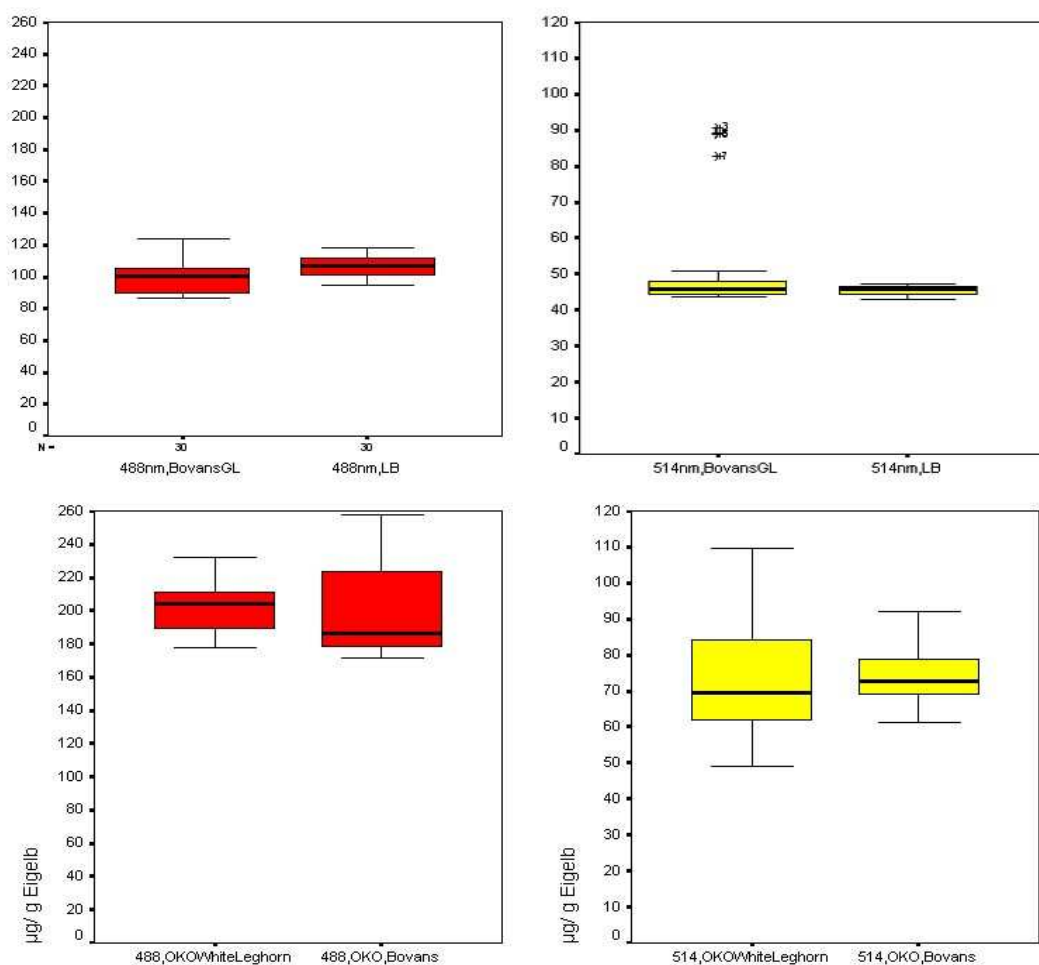


Abbildung 27: Vergleich verschiedener Zuchtlinien in der konventionellen Haltung (oberer Teil) und in der ökologischen Haltung (unterer Teil); Darstellung des Box and Whisker Plots; n = 20

Die statistischen Werte zu Abbildung 27 sind im Anhang zu finden. Allerdings ist auch aus der Abbildung leicht ersichtlich, dass sich weder die β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin (rot)

noch die Lycopinwerte (gelb) der verschiedenen Zuchtlinien unterscheiden Dies gilt für die konventionelle sowie für die ökologische Haltung (mittels t- Test statistisch gesichert).

An Abbildung 26 sollen abschließend noch zwei bemerkenswerte Dinge dargelegt werden. Zunächst wird an den- durch die Box and Whisker Plots abgebildeten- beobachteten Werten deutlich, dass (siehe Lycopinwerte konventionelle Haltung, Bovans GL) einige Lycopinwerte stark von dem, als fette Linie innerhalb des gelben Balkens gekennzeichneten, Zentralwert abweichen. [Box and Whisker Plots zeigen neben dem Zentralwert einer Stichprobe, das 50 % Quartil (Box) und das 75 % Quartil (Whisker)- alle Werte die außerhalb dieser Quartile liegen, werden als „Ausreißer“ durch einzelne Punkte gesondert gekennzeichnet]. Interessant dabei ist, das derartige Ausreißerwerte stets bei Lycopin zu beobachten waren- die β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthinwerte dagegen unterlagen keinen vergleichbaren Schwankungen. Daraus lässt sich ableiten, dass Lycopin einem dynamischeren Stoffwechsel unterliegt und die Werte zwischen einzelnen Individuen stärker differieren können, als dies bei β - Carotin der Fall ist. Für den menschlichen Lycopin- und Carotinoid- Metabolismus haben DARWIN ET AL (2006) entsprechende Ergebnisse erhoben.

Desweiteren soll auf die Tatsache hingewiesen werden, dass im Rahmen der Betrachtung verschiedener Zuchtlinien in der ökologischen Haltung, die Zuchtlinie „White Leghorn“ mit einbezogen wurde. Das in den USA gezüchtete weiße, mittelgroße Huhn gehört zu den intensiv genutzten Legehennen- Hybridzuchtlinien und ist auf gute Legeleistung und allgemein hohe Leistungsmerkmale gezüchtet. Das klassischerweise in konventioneller Intensivhaltung gehaltene White Leghorn adaptiert sich in vergleichbarerweise an das Carotinoidniveau aus ökologischer Haltung. In Bezug auf die Lycopinwerte muss hier allerdings auf eine größere Varianz der Lycopinwerte der White Leghorns gegenüber den Lycopinwerten der braunen Bovans hingewiesen werden (Tabelle siehe Anhang). Was zum einen durch den bereits angesprochenen dynamischeren Lycopin- Metabolismus und zum anderen durch eine höhere Stressanfälligkeit der White Leghorns erklärt werden kann.

Ein anderes Bild allerdings ergibt bei Betrachtung verschiedener Geflügelarten: Innerhalb der domestizierten Geflügelarten haben Hühner den effektivsten Metabolismus von Carotinoiden. Bei gleicher Gabe über das Futter lagern Hühner nahezu doppelt so viel Carotinoide in das Eigelb und mehr als doppelt so viel Carotinoide in die Leber ein als Truthähne, Enten und Gänse (SURAI ET AL, 1998).

4.2.2.2. Ernährungsphysiologische Versuchsreihe

Neben der statistisch gesicherten Darstellung der Ausgangsthese, dass ökologisch erzeugte Eier einen beachtlich höheren Gehalt an Carotinoiden in Form von β -Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin aufweisen, war die dynamische Darstellung des Carotinoid- Metabolismus ein weiteres bedeutendes Analyseziel. Im Besonderen wurden schwerpunktmäßig folgende Fragestellungen untersucht: unter Einbeziehung der zeitlichen Dimension sollte die Carotinoidanreicherung im Ei bei entsprechender Umstellung der Haltungsform von konventioneller (Stall-)Haltung zu ökologischer (Freiland-)Haltung und umgekehrt untersucht werden. Wobei der Zeitraum der Umstellung von einem niedrigen (konventionellen) Carotinoidniveau (ca. 110,36 $\mu\text{g/g}$ β -Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und 49,89 $\mu\text{g/g}$ Lycopin) zu einem „hohen“ ökologischen Niveau an Carotinoiden (ca. 195,98 $\mu\text{g/g}$ β -Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und 84,76 $\mu\text{g/g}$ Lycopin) und umgekehrt definiert werden sollte.

Dazu wurden 2 Versuchshennen vom Zeitraum Mai 2005 bis Januar 2006 wiederholt den beiden o.g. Haltungsformen ausgesetzt, die Eier wurden täglich gesammelt und innerhalb einer Woche gemessen. Zwischen Legen und Messen wurden die Eier ohne Licht bei 4 C° gelagert.

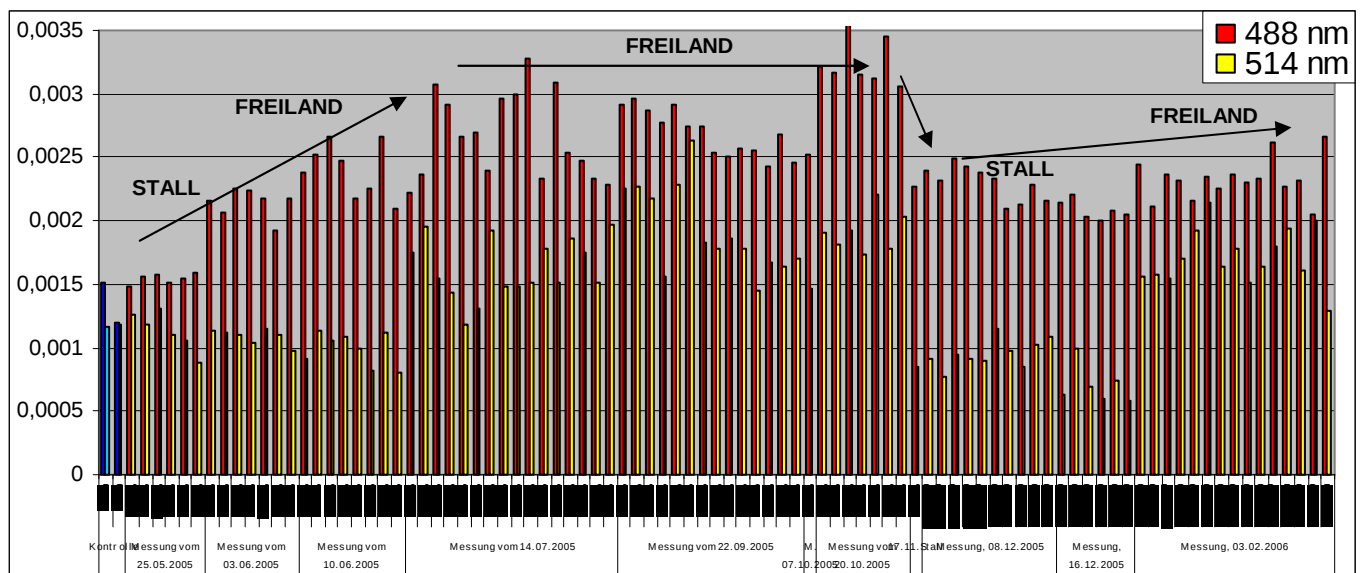


Abbildung 28: Darstellung der beobachteten Werte (*direktes Raman- Lasersignal*) der gesamten ernährungsphysiologischen Versuchsreihe, n = 92

Die Legehennen sind am 15.05.2005 eingestallt worden. Ab dem 22.05.2005 sind sie in Freilandhaltung mit Zugang zu Grünfutter ad libitum gehalten worden und am 19.10.2005 wieder eingestallt worden (Tiefstreustall, siehe Kapitel 3.2.1. Herkunft und Haltung der

Legehennen). Generell sind die Hennen mit einer Gerste- Weizenmischung gefüttert worden, wobei dies in den folgenden Absätzen im Rahmen der Stallhaltungsperiode im November/ Dezember 2005 noch spezifiziert werden muss. Ab dem 17.12.2005 sind die Hennen wieder in Freilandhaltung gehalten worden und bis zum Ende dieser Versuchsreihe nicht wieder eingestallt worden.

Abbildung 28 stellt das Raman- Lasersignal der untersuchten Eier von β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin über den gesamten Versuchszeitraum dar. Ein erster Anstieg der β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthinwerte wird bereits bei Messungen nach 7 Tagen (29.05.) sichtbar, eine Sättigung oder hohes Niveau scheint nach etwa 38 Tagen (29.06.) erreicht. Diese Daten sind mit Ergebnissen aus der Literatur vergleichbar: so haben SURAI ET AL (1998) einen Anstieg des Gehalt an Carotinoiden im Eigelb nach systemischer Gabe ab dem 7. Tag beobachtet. Eine Sättigung haben SURAI ET AL schon nach 11 Tagen beobachtet. Allerdings muss hier angemerkt werden, dass die Versuche mit systemischen Gaben von Carotinoiden über das Mischfutter (die sehr viel höhere Gehalte an Carotinoiden aufweisen als das natürliche Grünfutter) vollzogen wurden. Andere Autoren haben eine Sättigung des Anstiegs nach 21 Tagen (ebenfalls nach systemischer Gabe über das Futter) beobachtet (LEESON ET AL, 2004).

Vor dem Hintergrund einer etwa 20- tägigen Eigelbentwicklung (von der Urkeimzelle bis zur Passage durch den Eileiter) scheint eine Erhöhung der Carotinoidwerte bereits nach 7 Tagen verwunderlich. Erklärend kann dazu hinzugefügt werden, dass die äußeren Eigelbschichten während des Wachstums am Eierstock erst in den letzten Tagen vor dem Eisprung angelegt werden (BROWN, 1988). Diese mit Carotinoiden angereicherten Schichten bedingen einen ersten Anstieg bereits nach einigen Tagen.

Die Werte des mittleren Teils der Grafik (Abbildung 28) (Freilandhaltung) sind vom prinzipiellen Niveau her gut vergleichbar mit den in Kapitel 4.2.1.1. dargestellten Werten von ökologischen (gekauften und selbst erzeugten) Eiern. Auffällig sind allerdings hohe Schwankungen der Carotinoidgehalte innerhalb dieser Periode. Die statistischen Werte dazu sind in Tabelle 11 zu finden. Mit einem Variationskoeffizienten von $s\%_{488} = 12,2 \%$ sowie $s\%_{514} = 17,5 \%$ und hohen Standardabweichungen (siehe Tabelle 11) gilt es diesen Sachverhalt näher zu betrachten.

Tabelle 11: Statistische Werte Freilandhaltungsperiode Sommer 2005, n = 35

Descriptive Statistics, µg/ g Eigelb						
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	s ² Variance
488,GutHesterberg	35	161,1907	257,8627	197,8848	23,885605982	570,522
514,GutHesterberg	35	49,208333	109,5000	74,38452	13,013297152	169,346
Valid N (listwise)	35					

In dieser Periode sind keine Haltungsveränderungen vollzogen worden, die Legehennen haben stets die gleiche Getreidemischung erhalten und Zugang zu Grünflächen war täglich den gesamten Tag über gewährleistet. Keine der Hennen wies eine Erkrankung oder Schwächung über diesen Zeitraum auf.

Ausdrücklich sei vorweg gestellt, dass die folgenden Ausführungen nicht statistisch gesichert/ überprüft sind, dennoch können die kommenden Sachverhalte sinnvolle und logisch nachvollziehbare Erklärungsansätze für die Schwankungen der Carotinoidgehalte in den Eiern liefern. Vergleicht man die Perioden von Messungen mit besonders hohen Carotinoidgehalten (hier exemplarisch: 14.- 19.10.) und niedrigen Carotinoidgehalten (hier exemplarisch 03.-09.08.) so fällt auf, dass etwa eine Woche (erste Auswirkungen im Gehalt an Carotinoiden sind nach 7 Tagen nachzuweisen) vor diesen Perioden andere Wetterbedingungen geherrscht haben. In der Woche vor dem 03.-09.08. (niedrige Werte) hat es durchschnittlich 4,2 mm geregnet und es war mit durchschnittlich 5 Sonnenstunden pro Tag relativ schlechtes Wetter (in dieser Bezugswoche: durchschnittlich 2,9 mm Regen und durchschnittlich 3 Sonnenstunden/ Tag). In der Woche vor dem 14.- 19.10. (hohe Werte) hat es nicht geregnet und mit durchschnittlich 9,7 Sonnenstunden pro Tag war das Wetter relativ gut (in dieser Bezugswoche: ebenfalls kein Regen und 7,6 Sonnenstunden/ Tag) [alle Wetterdaten sind aus dem Archiv von WetterOnline für die PLZ 16818 entnommen]. Eine statistische Korrelation der Carotinoidgehalte der Eier an die jeweiligen Wetterbedingungen war statistisch zwar nicht auszuwerten, logisch allerdings liefert diese Betrachtung sehr wohl eine Erklärung: Hühner meiden Regen und da die Legehennen während der Freilandperiode ihren Aufenthaltsort selbst bestimmen konnten, hielten sich die Tiere während regnerischen Schlechtwetter- Tagen vermehrt/ ausschließlich im Stall auf. Folglich wurde durch die Hennen mehr Getreide aufgenommen als Grünfutter. Während der regenfreien Perioden war zu beobachten, dass sich die Hennen stets außerhalb des Stalls aufhielten und auf dem Grünland mit Futteraufnahme beschäftigt waren. In diesen Perioden wurde mehr Grünfutter aufgenommen. Abschließend kann festgehalten werden: betrachtet man die Carotinoidwerte von ökologischen Eiern so ist eine Einbeziehung der Determinante Wetter hilfreich für die Erklärung leichter

Schwankungen der Carotinoidgehalte. Wobei das vorab identifizierte hohe Carotinoidniveau von ökologischen Eiern nicht verlassen wurde.

Die Betrachtung des Abschnittes vom 19.10.2005 bis zum Ende der Versuchsreihe soll nach Zerlegung der gesamten Versuchsreihe in einzelne Trends (siehe Abbildung 29) diskutiert werden. Vorab wird angemerkt, dass die Zerlegung der Zeitreihe in Trends jeweils parallel zu den Umstellungen auf die andere Haltungsform vollzogen worden ist. Inhaltlich können die Trends damit folgendermaßen beschrieben werden:

- Trend 1 (21.05.-29.06.) Umstellung von Stallhaltung auf die Freilandhaltung, bis Sättigungsniveau erreicht **„Anstieg der Werte“**
- Trend 2 (29.06.- 19.10.) Freilandhaltungsperiode, hohes Carotinoidniveau **„Stagnation der Werte“**
- Trend 3 (19.10.- 01.12.) Beginn Stallhaltungsperiode **„Absinken der Werte“**
- Trend 4 (01.12. – 15.01.2006) Umstellung von Stallhaltung auf Freilandhaltung (am 16.12.) **„Anstieg der Werte“**

Vergleicht man diese inhaltliche Beschreibung der Trends mit der Abbildung der jeweiligen Regressionsfunktionen (Abbildung 29) so fällt für β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin besonders auf, dass Trend 3 „Absinken der Werte“ gering und Trend 4 „Anstieg der Werte“ extrem gering ausfällt (die statistische Überprüfung der Regressionen hat einen nicht signifikanten Trend 4 ergeben, siehe Tabelle 12 Statistische Regressionsanalyse). Demgegenüber steht ein logisches Verhalten der Regressionsfunktionen von Lycopin; Trend 1 ist hier zwar statistisch nicht signifikant, das resultiert allerdings aus einem verzögerten Anstieg der Lycopinwerte.

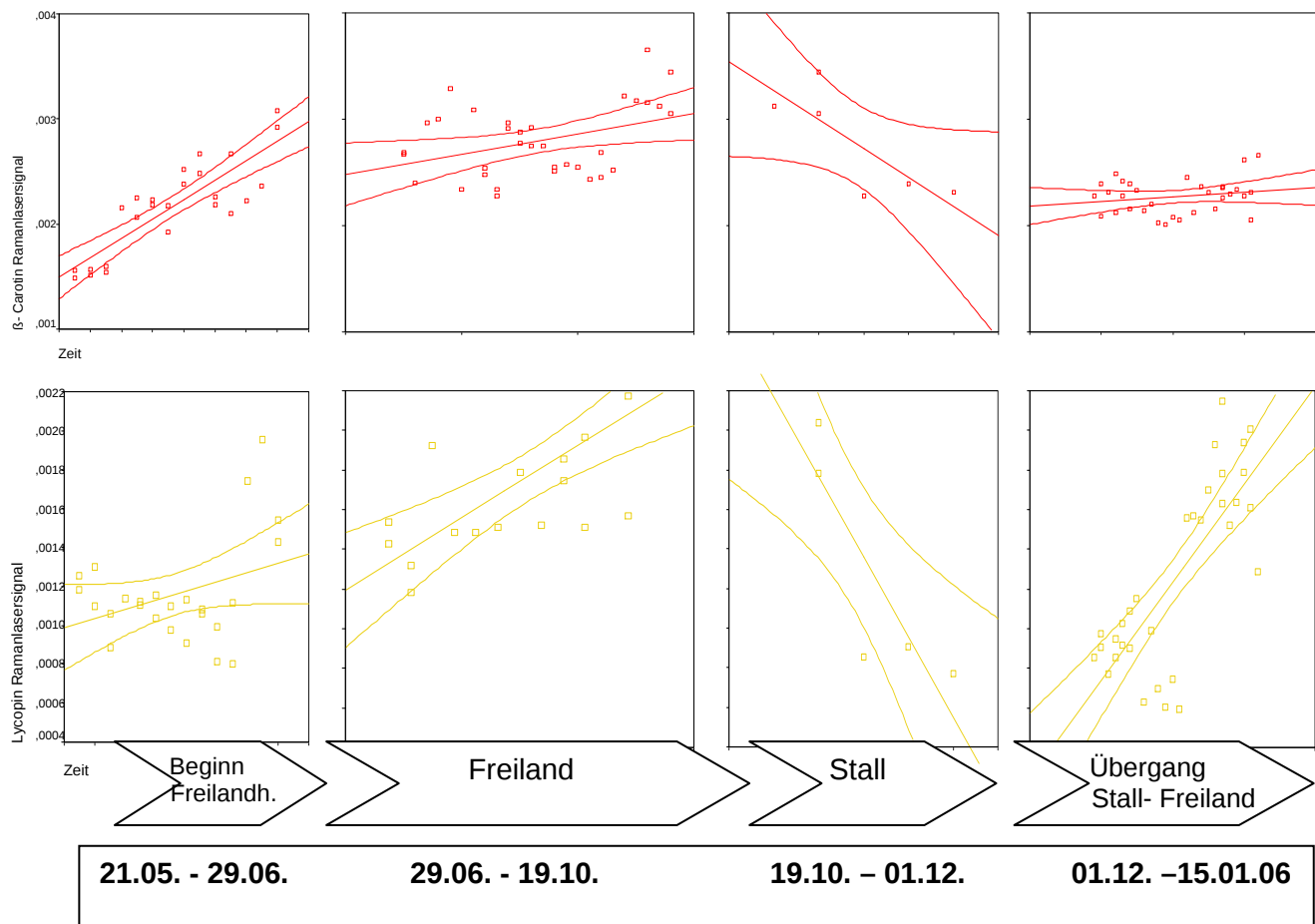


Abbildung 29: In einzelne Trends zerlegte Regressionsfunktionen (und 95 % Konfidenzintervall) der ernährungsphysiologischen Versuchsreihe- oberer Teil β -Carotin/Lutein/ Zeaxanthin unterer Teil Lycopin, n = 92 (Darstellung des direkten Raman-Lasersignals)

Daraus ergibt sich die Fragestellung, wie es zu einem nur geringen Absinken und daraus resultierenden dann sehr geringen Anstieg der Carotinwerte kommen kann, obwohl eine Umstellung auf die Stallhaltung ein stärkeres Absinken und wiederum die Umstellung auf die Freilandhaltung ein stärkeren Anstieg (siehe Lycopin) hätte bedingen müssen. Aus den Versuchsprotokollen wird klar, dass im Rahmen dieser 2. Stallhaltungsperiode eine andere Getreidemischung zur Fütterung der Legehennen eingesetzt wurde. Unüblicherweise waren neben Gerste und Weizen hier *Mais und Hafer* die dominierenden Getreide. Mais ist das Getreide mit dem höchsten Carotinoidgehalt in Form von Lutein/ Zeaxanthin (durchschnittlich 11,14 mg/ kg TS; PANFILI ET AL, 2004). Daraus kann schlussfolgernd festgestellt werden, dass es sich bei den „nicht sinkenden“ Werten der Stallperiode nicht um β - Carotinwerte handelt, sondern hier eine Überlagerung der β - Carotinwerte durch künstlich erhöhte Lutein- Gabe existiert. [Da β - Carotin und Lutein bis auf eine Doppelbindung eine identische Strukturformel haben, absorbiert der Raman-Laser bei einer Anregung von 488 nm β - Carotin und Lutein/ Zeaxanthin].

Die nicht signifikante statistische Auswertung des 4. Trends kann somit bestätigt werden, wobei eine Signifikanz des 3. Trends vor dem Hintergrund einer differierenden Fütterung ebenso angezweifelt werden sollte. Eine Interpretation der Werte scheint nur vor dem Hintergrund einer Lutein- Anreicherung sinnvoll.

Tabelle 12: Statistische Daten und Tests der Regressionsanalyse aufgeteilt nach Trends,
n_{ges} = 92

Statistische Regressionsanalyse Ernährungsphysiologische Versuchsreihe n = 92							
Versuchszeitraum/ Trend	nm	Regressions- koeffizient	t- Test	Bestimmt- heitsmaß	F- Test	p- value	Korrelations- koeffizient
β- Carotin		µg/ g Eigelb					
21.05. - 29.06. von Stall in Freiland	488	6,545	H _A	0,722	H _A	P< 0,01 **	0,85
29.06. - 19.10. Freiland	488	1,159	H _A	0,12	H _A	P< 0,05 *	0,35
19.10. - 01.12. Übergang Stall	488	-19,199	H _A	0,64	H _A	P< 0,05 *	0,80
01.12. - 15.01.06 von Stall in Freiland	488	0,0305	H ₀	0,039	H ₀	P= 0,28 n.s.	0,20
Lycopin		µg/ g Eigelb					
21.05. - 29.06. von Stall in Freiland	514	0,98	H ₀	0,126	H ₀	P= 0,081 n.s.	0,35
29.06. - 19.10. Freiland	514	0,613	H _A	0,113	H _A	P< 0,05 *	0,34
19.10. - 01.12. Übergang Stall	514	-16,79	H _A	0,821	H _A	P< 0,05 *	0,91
01.12. - 15.01.06 von Stall in Freiland	514	2,005	H _A	0,606	H _A	P< 0,01 **	0,78

Ausgehend von einer Betrachtung der einzelnen Trends der Versuchsreihe ergibt sich für Lycopin ein anderes Bild: Trend 2, 3 und 4 folgen logisch dem Inhalt der jeweiligen Trends. Für Trend 1 ergibt sich allerdings eine möglicherweise verwirrende Konstellation. Dem aufmerksamen Leser/ Betrachter wird nicht entgangen sein, dass eingangs auf einen dynamischeren Lycopinmetabolismus hingewiesen wurde. Daher liegt die Schlussfolgerung nahe, dass der Anstieg der Lycopinwerte in Trend 1 vergleichbar oder stärker als der Anstieg der β- Carotin, Lutein/ Zeaxanthinwerte ausfallen muss. Der tatsächlich sehr geringe Anstieg (dieser Trend ist in der statistischen Auswertung als nicht signifikant zu betrachten, siehe Tabelle 12) der Lycopinwerte lässt sich indes mit der gleichen Argumentation erklären: ein dynamischerer Carotinoidmetabolismus bedingt ebenso eine erhöhte Sensitivität gegenüber äußeren Determinanten. Denn eine Umstellung der Haltungsform beinhaltet zunächst Stress für die Legehennen. Der

verzögerte/ geringe Anstieg der Lycopinwerte in Trend 1 könnte durch eine Auswirkung von Stress auf den Lycopinmetabolismus erklärt werden.

Abbildung 30 gibt das Erörterte übersichtlich durch Darstellung der Regressionskoeffizienten von β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin (rot) und Lycopin (gelb) der einzelnen Trends wieder.

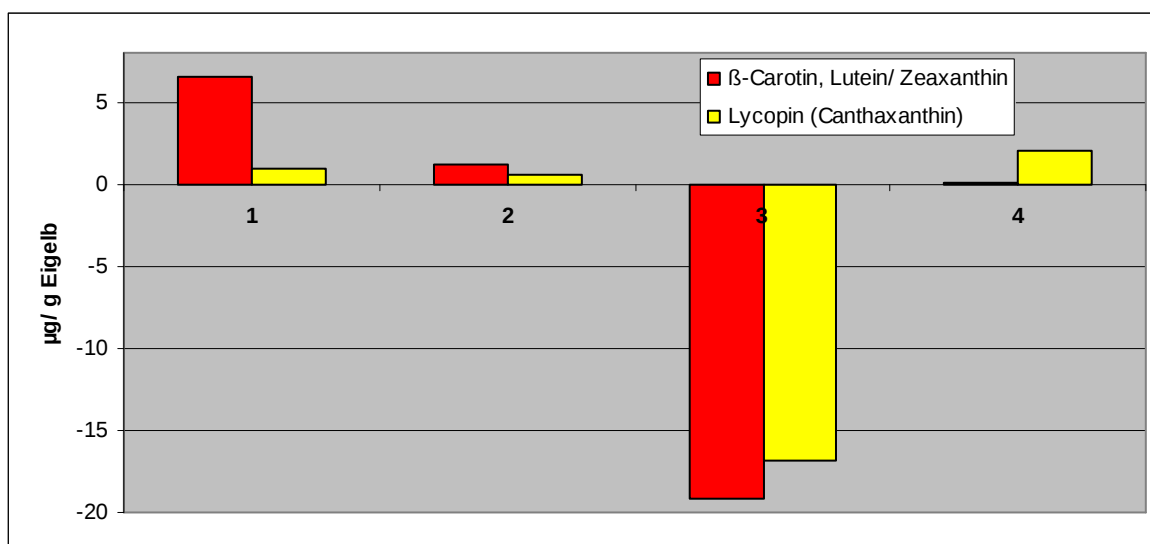


Abbildung 30: Darstellung der Regressionskoeffizienten der einzelnen Trends von β -Carotin (rot) und Lycopin (gelb), $n_{\text{ges}} = 92$

4.2.2.3. Carotinoidakkumulation im Eigelb und die embryonale Entwicklung

In Kapitel 2.5.7. (Die Bedeutung von Carotinoiden in der Embryonalentwicklung) ist deutlich geworden, dass Carotinoide während der embryonalen Entwicklung im Ei und nach dem Schlupf einen herausragenden Beitrag zur Nährstoffversorgung sowie der Aufrechterhaltung des antioxidativen Schutzsystems des Embryos/ Kükens leisten. Ohne Art und Relevanz der Wirkung von Carotinoiden innerhalb der embryonalen Entwicklung wiederholt aufzuzeigen, sollen im Folgenden Beobachtungen aus den selbst durchgeführten Versuchen dargestellt und diskutiert werden, die einen inhaltlichen Beitrag zur Weiterentwicklung des Themas „Carotinoide und ihre Bedeutung innerhalb der embryonalen Entwicklung des Kükens“ liefern können.

Dazu sollen die Ergebnisse aus der Versuchsreihe „Lagerungsprozesse“ exemplarisch herangezogen werden. Betrachtet man die β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthinwerte (*hier direktes Raman- Laser Signal*) im Zeitverlauf der Lagerung (Abbildung 31) so fällt auf, dass die Messwerte der 2. Woche über den anderen Werten liegen. Ein Anstieg der Werte

ist z.B. durch Isomerisationsprozesse möglich. (Die Überprüfung der statistischen Signifikanz der Werte der 2. Woche mit den Messungen aus der 1. und 3. Woche war aufgrund des geringen Stichprobenumfangs nicht möglich, d.h. nachfolgend werden beobachtete aber *nicht statistisch gesicherte* Ergebnisse diskutiert).

Die, für die Lagerungsversuche herangezogenen, Eier wurden exakt 1 Woche vor Beginn der Einlagerung gelegt, woraus sich ein Schlupf des Embryos (nach 21 Tagen) in der 2. Versuchswoche ergeben würde. In der 2. Woche ist ebenfalls das maximale Carotinoidniveau identifiziert worden. Weitere Überlegungen zu dieser Konstellation sollen an Abbildung 32 Entwicklung des Embryos im Ei diskutiert werden.

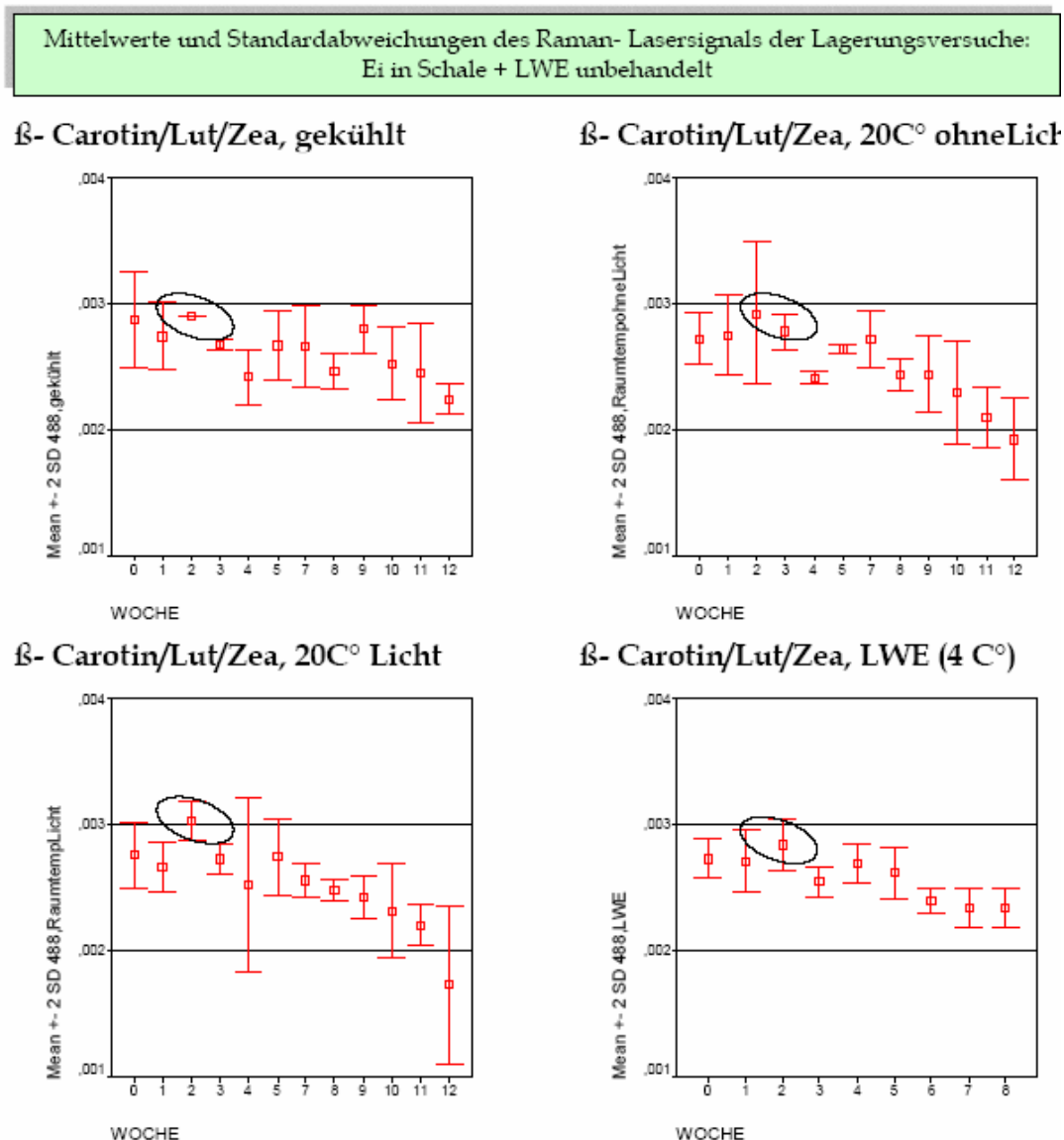


Abbildung 31: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen des Raman- Lasersignals von β- Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin ausgewählter Lagerungsverfahren

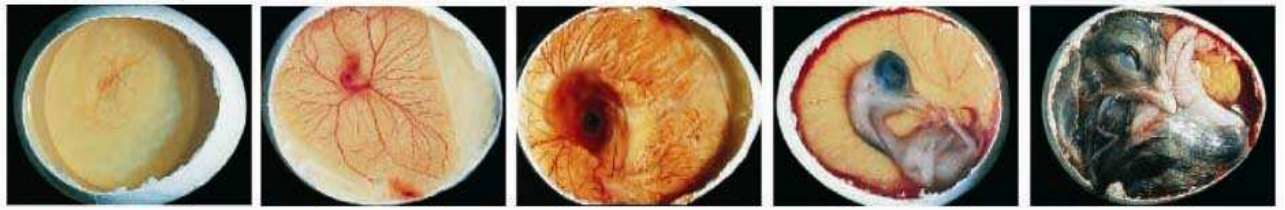


Abbildung 32: Entwicklung des Embryos im Ei

An Abbildung 32 wird deutlich, dass (siehe 4. Bild) der schon relativ weit entwickelte Embryo in dem vollständig erhaltenen Eigelb liegt. Sogar zum Ende der Entwicklung (5. Bild) ist das Eigelb noch sichtbar. Tatsache ist, dass das Eigelb nur zu einem kleinen Teil als Nahrungsquelle während der embryonalen Entwicklung dient. Kurz vor dem Schlupf (am 19. oder 20. Bruttag) zieht das Küken den Dotter vollständig durch den Nabel ein. Dieser schließt sich darauf. Der Dotter dient dem Küken als Nahrungsreserve nach dem Schlupf, bis zu 24 Stunden nach dem Schlupf kann das Küken so mit Nährstoffen versorgt werden, ohne selbst Nahrung aufnehmen zu müssen (BROWN, 1988). Interessanterweise ist der Zeitpunkt der Aufnahme des Dotters in die Bauchhöhle gleichzeitig der Zeitpunkt an dem der höchste Carotinoidwert innerhalb der Lagerungsverfahren gemessen wurde. Die in Kapitel 2.5.7. vorgestellten Funktionen machen klar, dass es sich hierbei nicht nur um eine effektive Nährstoffreserve von Vitamin A handelt, sondern zu diesem Zeitpunkt die Grundlage eines soliden Carotinoid- Metabolismus gelegt wird, der im weiteren Verlauf der Entwicklung des Kükens *den bedeutenden* Beitrag zum antioxidativen Schutzsystem leistet.

Zur Wahrung einer vollständigen Vorstellung der Tatsachen wird abschließend darauf hingewiesen, dass SURAI ET AL ein anderes Verhalten der Carotinoidwerte in *befruchteten* Eiern gemessen haben. Ab dem 15. Tag sinkt der Carotinoidgehalt im Eigelb stetig und steigt in der Leber des Embryos hingegen stark an (SURAI ET AL, 1996). Zunächst kann dazu festgehalten werden, dass die Autoren nicht zwischen einzelnen Carotinoiden differenziert haben und dass die Messungen an befruchteten Eiern durchgeführt wurden. Ein Abfluss der Carotinoide in die Leber des Embryos war innerhalb der Lagerungsversuche nicht möglich. Summiert man demgemäß die Werte von SURAI ET AL auf einen Gesamtcarotinoidgehalt im Ei, so ergibt sich das gleiche Bild: in der 3. Woche (hier: 2. Woche der Lagerungsversuche) ist der Gehalt an Carotinoiden im Ei (Eigelb) am höchsten.

4.3. Effekte aus Lagerungs- und industriell- lebensmitteltechnologischen Verarbeitungsverfahren auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei

Nach Identifikation eines bemerkenswert höheren Gehalts von Carotinoiden in Eiern von ökologisch gehaltenen Hühnern soll sich das folgende Kapitel nun ausführlich mit verschiedenen Lagerungs- sowie Konservierungsverfahren beschäftigen, um zunächst zu ermitteln, ob und in wieweit der Gehalt an Carotinoiden durch diese beeinträchtigt wird und demgemäß beim Verbraucher gar nicht mehr ankommt.

4.3.1. Auswirkungen unterschiedlicher Lagerungsverfahren auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei und Eiprodukten

Einleitend sollen zunächst einige Anmerkungen vorweg gestellt werden. Die Eier- und Eiprodukteverordnung (Fassung vom 17.12.1993) und die EG VO 2295/2003 beschränken das Mindesthaltbarkeitsdatum von Schaleneiern auf 28 Tage nach dem Legedatum. Der Verkauf von Eiern darf bis zum 21. Tag nach dem Legedatum erfolgen, ab dem 18. Tag ist eine Temperatur von 5 – 8 C° einzuhalten. Für Eiprodukte gilt eine Pflicht der Behandlung/ Konservierung 24 Stunden nach dem Aufschlagen, es sei denn die unbehandelten Eier werden unverzüglich weiterverarbeitet. Zu lagern sind Eiprodukte bei 4 C°.

Ausgehend von der Tatsache, dass die Brut 21 Tage dauert bis das Küken schlüpft kann vorab angenommen werden, dass das Ei ein derart optimiertes System darstellen sollte, das auch nach 2- 3 Wochen Lagerung bei Raumtemperatur (Bruttemperatur liegt bei 37,8°C, BROWN, 1988) die Carotinoide vor einem Abbau schützt. Andernfalls würden die für die embryonale und postnatale Entwicklung des Kükens überaus wichtigen Carotinoide (siehe Kapitel 2.5.7.) diesem nicht mehr zur Verfügung stehen. Andererseits muss aber auch angemerkt werden, dass ein wesentlicher Abbau von Carotinoiden z.B. in Tomatensaft bereits nach 2 Wochen eingesetzt hat und nach 8 Wochen nahezu abgeschlossen war (LIN ET AL 2005).

Betrachtung der einzelnen Lagerungsverfahren im Vergleich

Die Schaleneier (alle von Hennen aus ökologischer Haltung; VO (EWG) 2092/91) wurden insgesamt 4 verschiedenen Lagerungsverfahren für jeweils 12 Wochen unterzogen:

- gekühlte Lagerung bei 4 C° (ohne Lichteinfluss)
- Lagerung bei Raumtemperatur (20 C°) ohne Lichteinfluss
- Lagerung bei Raumtemperatur (20 C°) mit Lichteinfluss
- Lagerung unter Stickstoffatmosphäre (Raumtemperatur, Lichteinfluss).

Die Flüssigeier wurden bei 4 C° ohne Lichteinfluss (8 Wochen) gelagert. Vor Diskussion der Ergebnisse muss darauf hingewiesen werden, dass *alle* Messwerte der 6. Woche für die gesamten Lagerungsverfahren der Schaleneier aufgrund eines aus technischen Problemen resultierenden Messfehlers des Ramanlasers statistisch nicht ausgewertet werden konnten.

Die in Abbildung 33 dargestellten Regressionsfunktionen (hier für Lycopin, die Regressionsfunktionen für β - Carotin sind im Anhang zu finden) zeigen zunächst einen allgemein sinkenden Trend. Alle Verfahren zusammenfassend betrachtet, sinkt der Gehalt an Carotinoiden (β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin) durchschnittlich um 2,18 % des Ausgangsgehaltes pro Woche. Zudem sollte bei Betrachtung der Regressionsfunktionen bedacht werden, dass die Eier (gesetzliche Mindesthaltbarkeit) in den privaten Haushalten nach 3 Wochen zu verbrauchen sind.

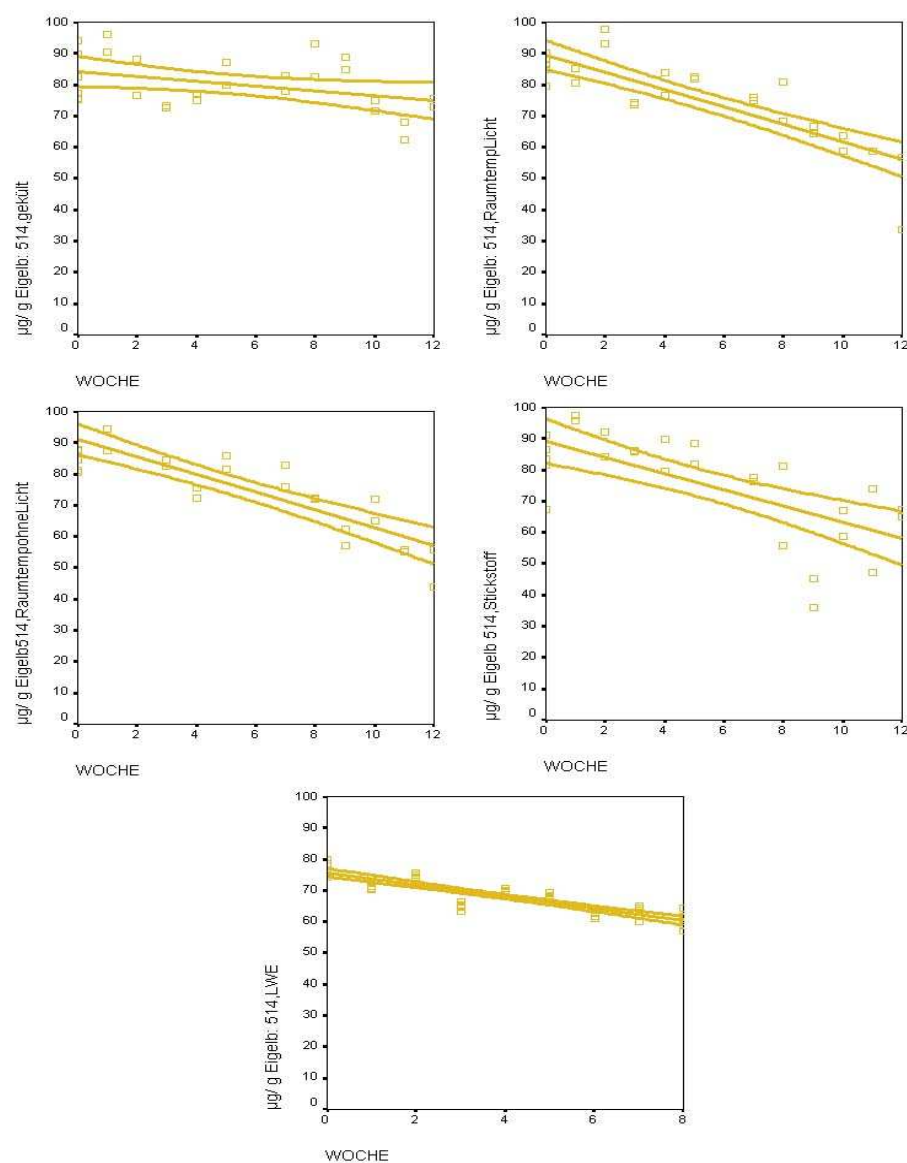


Abbildung 33: Regressionsfunktionen mit 95 % Konfidenzintervall von Lycopin für die Lagerungsverfahren (Ordinatenachsenausschnitt), Graph1- 4 jeweils n =30; Graph 5 n= 54

Einige Erläuterungen zu den einzelnen Verfahren sollen folgend an Tabelle 13 und Abbildung 34 diskutiert werden. Die zunächst zufriedenstellende statistische Signifikanz (bis auf 2 Verfahren waren alle sehr signifikant **) soll für die Lagerung unter Stickstoffatmosphäre relativiert werden. Aus der Abbildung der Regressionsfunktion (siehe Abbildung 33) wird ersichtlich, dass besonders zum Ende der Versuchsreihe die Messwerte vermehrt bzw. überwiegend außerhalb des Konfidenzintervalls liegen. Dies kann damit erklärt werden, dass die Eier ab der 6. Woche zunehmend mit Schimmelkolonien überzogen waren, was zu inneren Fäulnisprozessen führte. Auf eine weitere Interpretation dieser Versuchsreihe soll verzichtet werden, da angenommen wird, dass die drastische Reduktion der Carotinoidwerte zum Ende der Versuchsreihe auf Fäulnisprozesse zurückzuführen ist und nicht auf den Einfluss einer Lagerung unter Stickstoff.

Tabelle 13: Statistische Regressionsanalyse der Lagerungsverfahren

Statistische Regressionsanalyse Versuchsreihe Lagerungsprozesse								
Versuchsreihe	nm	Regressions- koeffizient	Regr.Koeff. in % von Nullpr	t- Test	Bestimmt- heitsmaß	F- Test	Korrelations- koeff.	p- value
4) Lagerungsversuche		µg/ g Eigelb		2,06		4,22	r	
Schaleneier, n=30; Dauer: 12 Wochen								
gekühlt, 4 C°	488	-2,603	-1,3%	H _A	0,458	H _A	-0,68	P< 0,01 **
	514	-0,783	-0,9%	H _A	0,157	H _A	-0,40	P= 0,039 *
20 C - Licht	488	-4,346	-2,2%	H _A	0,612	H _A	-0,78	P< 0,01 **
	514	-2,782	-3,3%	H _A	0,724	H _A	-0,85	P< 0,01 **
20 C - ohne Licht	488	-3,92	-2,0%	H _A	0,629	H _A	-0,79	P< 0,01 **
	514	-2,835	-3,4%	H _A	0,705	H _A	-0,84	P< 0,01 **
20 C- Stickstoff	488	-1,499	-0,8%	H _A	0,220	H _A	-0,47	P= 0,011 *
	514	-2,58	-3,1%	H _A	0,484	H _A	-0,70	P< 0,01 **
LWE, n= 54, Dauer 8 Wochen								
		µg/ g Eigelb		2,01		4,02		
unbehandelt, gekühlt 4 C°	488	-4,045	-2,1%	H _A	0,639	H _A	-0,80	P< 0,01 **
	514	-1,915	-2,6%	H _A	0,761	H _A	-0,87	P< 0,01 **

Vergleicht man die Lagerung bei Raumtemperatur mit gekühlter Lagerung bei 4 C° [1], so fällt ein erhöhter Verlust von β- Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin bei der Lagerung bei 20 C° auf [2,3] (siehe Regressionskoeffizienten in Abbildung 34). Womit eine niedrige Temperatur einen positiven Einfluss auf den Erhalt von Carotinoiden im Ei hat. Dies gilt allerdings nur bei Betrachtung der Schaleneier. Vergleicht man die Regressionskoeffizienten der gekühlten Lagerung von Flüssigeiern (Eigelb) [5] mit der gekühlten Lagerung von Schaleneiern [1], so hebt sich der Temperatureffekt wieder auf.

Eine gekühlte Lagerung scheint sich daneben stärker auf einen Erhalt von Lycopin gegenüber β -Carotin, Lutein/ Zeaxanthin auszuwirken (Vergleich der Regressionskoeffizienten gekühlt vs. nicht gekühlt) bzw. bewirkt eine Lagerung bei Raumtemperatur einen stärkeren Abbau von Lycopin. Der Gehalt an β -Carotin, Lutein/ Zeaxanthin reagiert nicht vergleichbar auf eine Temperaturveränderung.

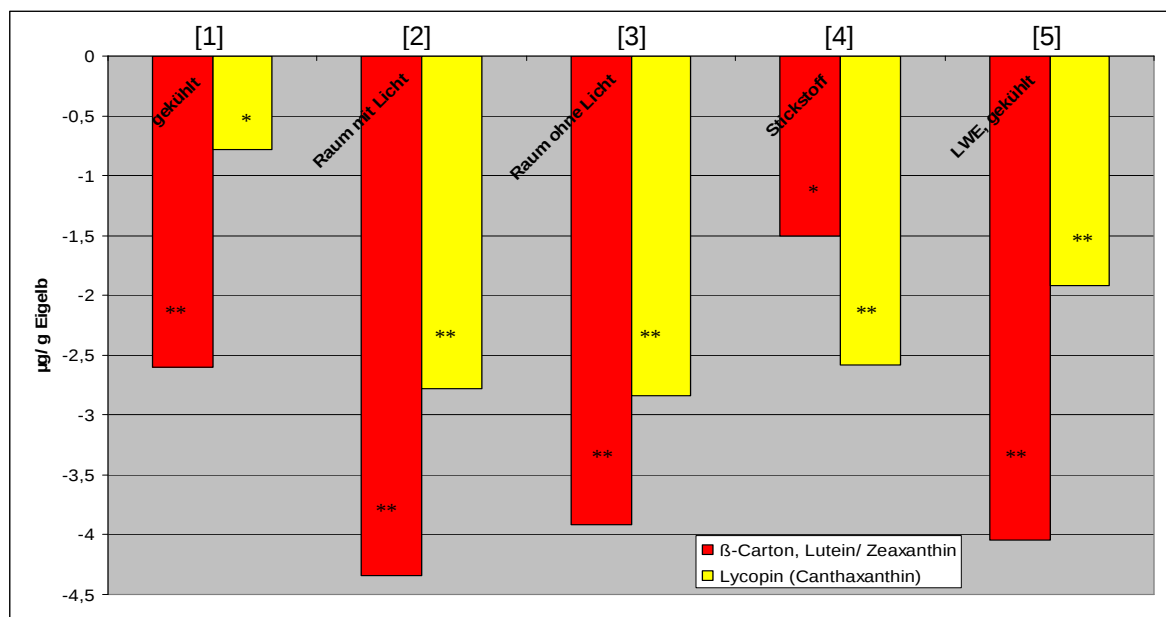


Abbildung 34: Darstellung der Regressionskoeffizienten mit statistischem Signifikanzniveau für alle Lagerungsverfahren (rot: β -Carotin, Lutein/ Zeaxanthin, gelb: Lycopin)

Abschließend kann bestätigt werden, dass ausgehend von einer überwiegend gekühlten Lagerung in den privaten Haushalten sowie auch bei der industriellen Verarbeitung und einem Verbrauch nach spätestens 28 Tagen (3. Woche) in den privaten Haushalten der Gehalt an Carotinoiden einer sehr geringen Reduktion unterlegen ist. Die übliche Lagerung von Eiern und Eiprodukten hat keinen bemerkenswert negativen Einfluss auf den Gehalt an Carotinoiden im Öko- Ei.

4.3.2. Auswirkungen unterschiedlicher Konservierungsverfahren auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei und Eiprodukten

Ausgehend von einem relativ geringen Einfluss der Lagerung auf den Gehalt von Carotinoiden im ökologischen Ei, ist es zusätzlich von großer Bedeutung, die Auswirkungen verschiedener Konservierungsprozesse zu betrachten, da durch diese ebenso ein beachtliches Reduktionspotential ausgehen könnte.

Die Eier bzw. Flüssigeier sind nach Messung einer Nullprobe den jeweiligen Konservierungsmethoden unterzogen und unverzüglich danach wiederum gemessen worden. Desweiteren sind alle Proben 8 Wochen gelagert worden (bei Dunkelheit, 4 C°), um mögliche Auswirkungen im weiteren Zeitverlauf ebenfalls erfassen zu können. Dazu sind wöchentlich jeweils 6 Flüssigei- Proben bzw. 2 Eier pro Verfahren gemessen worden.

Nach Vorstellung einiger zusammenfassender Ergebnisse der Regressionsanalyse sollen die jeweiligen Konservierungsverfahren kurz separat beleuchtet werden, um abschließend möglicherweise zweckmäßige Verfahren im Rahmen einer Carotinoid- schonenden Konservierung zu identifizieren.

Tabelle 14: Statistische Regressionsanalyse der Konservierungsverfahren

Statistische Regressionsanalyse Versuchsreihe Konservierungsprozesse								
Versuchsreihe	nm	Regressions- koeffizient	Regr.Koeff. in % von Nullpr	t- Test	Bestimmt- heitsmaß	F- Test	Korrelations- koeff.	p- value
5) Konservierungsprozesse; Dauer: 8 Wochen				2,06		4,22	r	
Ei mit Schale n = 26		µg/ g Eigelb						
Ultraschall	488	-3,082	-1,7%	H _A	0,53	H _A	-0,73	P< 0,01 **
	514	-1,891	-2,6%	H _A	0,65	H _A	-0,80	P< 0,01 **
Pasteurisierung	488	-5,610	-3,0%	H _A	0,28	H _A	-0,53	P< 0,01 **
	514	-4,190	-5,7%	H _A	0,52	H _A	-0,72	P< 0,01 **
Ozon	488	-2,593	-1,4%	H _A	0,47	H _A	-0,69	P< 0,01 **
	514	-1,830	-2,5%	H _A	0,59	H _A	-0,76	P< 0,01 **
LWE n = 58				2,01		4,02		
Ultraschall	488	-2,861	-1,5%	H _A	0,50	H _A	-0,71	P< 0,01 **
	514	-1,283	-1,7%	H _A	0,57	H _A	-0,76	P< 0,01 **
Pasteurisierung	488	-3,091	-1,6%	H _A	0,84	H _A	-0,92	P< 0,01 **
	514	-1,635	-2,2%	H _A	0,76	H _A	-0,87	P< 0,01 **
HHP	488	-2,068	-1,1%	H _A	0,51	H _A	-0,72	P< 0,01 **
	514	-1,287	-1,7%	H _A	0,69	H _A	-0,83	P< 0,01 **
HSI	488	-4,293	-2,2%	H _A	0,84	H _A	-0,92	P< 0,01 **
	514	-1,960	-2,6%	H _A	0,75	H _A	-0,87	P< 0,01 **

Die statistische Signifikanz der Regression war mit P- Werten von $P < 0,01$ über alle Verfahren hinweg sehr signifikant **. Mit einem Korrelationskoeffizienten (Maß für die Enge des stochastischen Zusammenhangs zweier Variablen) von überwiegend $r > - 0,7$ kann eine zufriedenstellende Güte der Regressionsanalyse sowie ein enger Zusammenhang zwischen Lagerungsdauer und Gehalt an Carotinoiden bestätigt werden. (Was aber nicht mit einer hohen Abnahme des Gehaltes verwechselt werden darf; siehe weiter unten). Lediglich bei der Pasteurisierung der Schaleneier (die zwar auch statistisch als sehr signifikant getestet ist) fällt ein hoher Regressionskoeffizient neben einem geringen Bestimmtheitsmaß ($B_{\beta\text{-Carotin}} = 0,28$ und $B_{\text{Lycopin}} = 0,52$) auf. Die dazugehörige Darstellung der Regressionsfunktionen von β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin (Abbildung 35) zeigt,

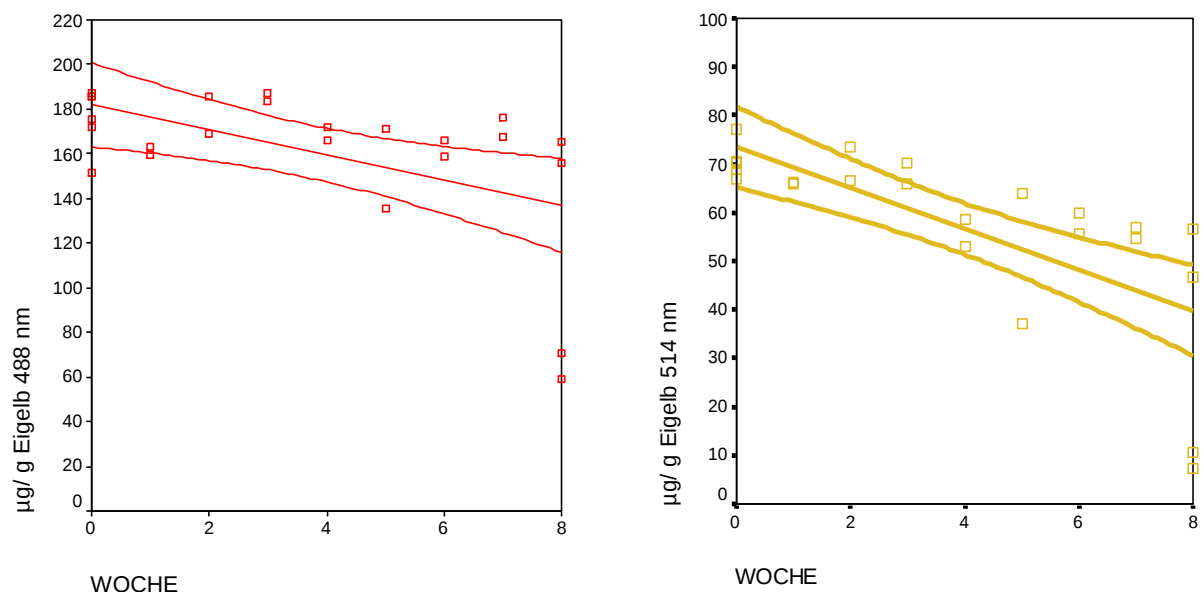


Abbildung 35: Regressionsfunktionen und 95 % Konfidenzintervall für β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin (rot) und Lycopin (gelb); Verfahren: Pasteurisierung Schalenei; $n = 26$ [die Abbildung der anderen Regressionsfunktionen ist im Anhang zu finden]

dass die hohen Regressionskoeffizienten durch einige Ausreißerwerte nach unten bedingt sind. Diese Eier waren Fäulnisprozessen unterlegen, welche teilweise schon ab der 5. Woche auftraten. Hierzu kann angemerkt werden, dass HOU ET AL (1996) bei der Pasteurisation von Schaleneiern schon bei einer Behandlungstemperatur von $57\text{ }^{\circ}\text{C}$ (25 min) erste Koagulationserscheinungen des Eiweiß beobachtet haben, parallel dazu haben die Autoren einen hohen Verlust der Lysozym- Aktivität entdeckt. Ein Verlust der Lysozym-

Aktivität im Eiweiß ist als besonders kritisch zu betrachten, da Lysozym ein wichtiger antimikrobieller Bestandteil des Eiweiß ist (HOU ET AL, 1996).

Für die vorliegenden Ergebnisse kann daher angenommen werden, dass ein Verlust der Lysozym- Aktivität im Rahmen der Konservierung der Schaleneier (59 C°, 60 min) zu den beobachteten Fäulnisprozessen geführt hat. Denn parallel zu den Beobachtungen von HOU ET AL ist nach der Pasteurisierung der Schaleneier ebenfalls eine leichte Koagulation des Eiweiß aufgetreten. Im Rahmen dieser Betrachtung soll bemerkt werden, dass die Ausgangskeimzahlen der Konservierungsversuche (siehe Kapitel 3.3.6.) ein geringes Niveau aufwiesen.

Ergänzend ist abschließend noch auf die Tatsache hinzuweisen, dass durch Erhitzen die Bindungen von Carotinoiden zu Proteinen gespalten werden können, kristalline Carotinoid- Aggregate gelöst und Zellverbände zerstört werden. Bei Koagulationserscheinungen von Eiweiß ist eine Spaltung der Bindungen von Carotinoiden und Proteinen auch innerhalb des Eigelbs wahrscheinlich. Daraus resultiert eine Abnahme der Lagerungsstabilität der Carotinoide (STAHL ET AL, 1992), wodurch diese einem schnellen Abbau unterlegen sind.



Abbildung 36: Fäulnisprozess Woche 8 nach Pasteurisierung, Koagulationserscheinung direkt nach Pasteurisierung

Die im Zeitverlauf stark sinkenden (einzelnen) Carotinoidwerte werden aber auf die Fäulnisprozesse und nicht auf eine Zerstörung von Carotinoiden durch Pasteurisierung zurückgeführt. Die These wird auch durch die Tatsache bestätigt, dass sich die Regressionskoeffizienten von β - Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin bei einer *Pasteurisierung der Flüssigeier* auf einem mit anderen Konservierungsverfahren vergleichbaren Niveau befinden. Es kann daher von einer optimaleren Prozessführung bei der Pasteurisierung von Flüssigeiern gegenüber der Pasteurisierung der Schaleneier

ausgegangen werden, denn die Flüssigeier unterlagen keinen Fäulnisprozessen (und auch keiner Koagulation).

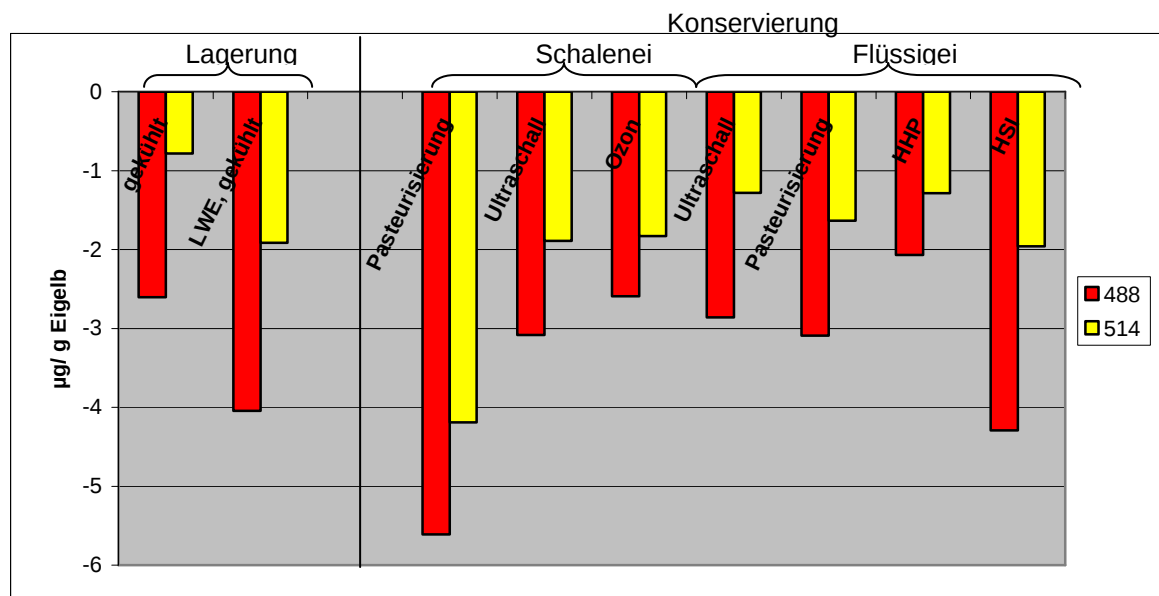


Abbildung 37: Gegenüberstellung der Regressionskoeffizienten der Konservierungsverfahren (Schaleneier n = 26; LWE n = 58) und der Lagerungsverfahren (Schaleneier n = 30; LWE n = 54)

Zur Wahrung einer umfassenden und vollständigen Darstellung der Ergebnisse soll vor Vergleich der einzelnen Verfahren untereinander einleitend ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass mit einer durchschnittlichen Reduktion der Carotinoidwerte um 1,2 % vom Ausgangsgehalt pro Woche von einer sehr geringen Auswirkung der Konservierungsverfahren auf den Gehalt auszugehen ist. Zudem war ein direkter Vergleich der Nullproben mit den unmittelbar nach der Konservierung gemessenen Proben statistisch nicht signifikant (gilt für alle Verfahren). Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Konservierung und nicht konservierten Eiern/ Flüssigeiern konnte nicht hergestellt werden, erst im Zeitverlauf lässt sich der leicht sinkende Gehalt statistisch auswerten.

Vergleicht man die einzelnen Konservierungsverfahren durch Betrachtung der Regressionskoeffizienten (Abbildung 37) untereinander, so fällt unabhängig von der Betrachtung der Pasteurisierung der Schaleneier ein relativ einheitliches Niveau auf. Lediglich die Hochdruckkonservierung scheint die Carotinoide in Flüssigeiern am wenigsten zu tangieren, wohingegen die Hochspannungsimpulsbehandlung den negativsten Einfluss auf das Carotinoidniveau hat. Dies lässt sich gut durch Ergebnisse aus der Literatur belegen. Für eine **Hochdruckkonservierung** von Lebensmitteln gilt:

niedriger Druck verstärkt eine Lipidoxidation, sehr hoher Druck allerdings zerstört Peroxide (freie Radikale) und verringert die Lipidoxidation (LUDI KHUYZE, HENDRICKX, 2001).

Daher kann möglicherweise davon ausgegangen werden, dass eine Hochdruckbehandlung die Carotinoide sogar vor oxidativem Abbau schützen kann. Zu einem ähnlich interessanten Ergebnis kommen QIU ET AL (2006), die für Tomatenpüree eine erhöhte Lycopinstabilität bei einer Druckbehandlung von 500 MPa gegenüber unbehandeltem Tomatenpüree nachgewiesen haben. Da dieser Effekt durch die Autoren auch direkt nach der Druckbehandlung nachgewiesen wurde (und bis 16 Tage danach), kann davon ausgegangen werden, dass möglicherweise Isomerisationseffekte zu einem erhöhten Gehalt an Carotinoiden (hier: Lycopin) in Tomatensaft direkt nach der Behandlung geführt haben können. Ähnliche Ergebnisse führen VAN HET HOF ET AL (2000) in ihrem Review über die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden auf: mechanische Homogenisierungsverfahren und Erhitzen erhöhen die Bioverfügbarkeit von Carotinoiden in Gemüse. Es sei dahingestellt, ob eine durch weitere Carotinoid- fokussierte Forschungen, optimierte Hochdruckanwendung ebenfalls zu einem „Aufschluss“ bzw. Erhöhung des Carotinoidgehaltes in Flüssigeiern führen kann. Zumindest ist davon auszugehen, dass das Peroxid- zerstörende Potential der Hochdruckanwendung bei Flüssigeiern Carotinoide sogar vor dem Abbau schützt, anstatt diese zu zerstören. Diese These wird bei einem Vergleich der Regressionskoeffizienten der Hochdruckanwendung mit den Regressionskoeffizienten der unbehandelten Flüssigeier deutlich: der größere Carotinoidverlust bei unbehandelten Flüssigeiern (LWE, gekühlt, Abbildung 36) zeigt gegenüber einem sehr viel niedrigerem Carotinoidverlust nach Hochdruckapplikation den möglicherweise positiven Effekt von Hochdruck.

Eine Wirkung von **Hochspannungsimpulsen** auf Carotinoide ist in der Literatur nur ansatzweise beschrieben. So geht man von einer Erhöhung der Carotinoidverluste parallel zu einer Erhöhung der elektrischen Feldstärke aus (MARTÍN- BELLOSO ET AL, 2005).

Für die Konservierungsverfahren Ultraschallbehandlung (Schalen- und Flüssigei), Waschen mit ozonisiertem Wasser (Schalenei) und Pasteurisierung (hier nur Flüssigei) kann angenommen werden, dass weder ein positiver noch negativer Effekt den Carotinoidgehalt der Eier tangiert. Es existiert kein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Regressionskoeffizienten der Konservierungsverfahren mit den Regressionskoeffizienten der jeweils unbehandelten Eier/ Flüssigeier. Dies ist vor dem Hintergrund potentieller prooxidativer Wirkungen der aufgeführten Verfahren eine ebenso gewichtige Erkenntnis. Die oxidative Wirkung von **Ozon** ist in Kapitel 2.6.3. Ozon Behandlung schon beschrieben worden (GÜZEL- SEYDIM, 2004 a). Beim Konservieren durch waschen mit ozonisiertem Wasser scheint die Schale der Eier einen wirksamen Schutz gegen oxidative Angriffe von Ozon auf das Eigelb zu bieten. Eine Konservierung

von Flüssigeiern durch Ozon wäre verfahrenstechnisch nicht möglich und ebenso vor dem Hintergrund einer intensiven Carotinoidzerstörung im Eigelb nicht sinnvoll.

ZENKER (2004) hat bei einer **Ultraschallkonservierung** von Orangensaft eine geringe Bildung von freien Radikalen nachgewiesen. Gegen eine reduzierende Wirkung auf den Gehalt der Carotinoide im Ei wird zum einen die Schale der Eier geschützt haben, zum anderen handelt es sich beim Eigelb scheinbar ebenfalls um eine wirksam schützende Matrix.

Ein direkter Effekt der **Pasteurisierung** auf Carotinoide ist nicht identifiziert und auch nicht in der Literatur beschrieben worden.

Insgesamt konnte im Rahmen dieser Versuchsreihe nicht nur ein sehr geringer Einfluss der Konservierungsverfahren auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei nachgewiesen werden, sondern bei Betrachtung der Hochdruckkonservierung ein positiver, im Zeitverlauf sogar Carotinoid- schonender Effekt identifiziert werden.

4.4. Effekte von Zubereitungsverfahren privater Haushalte auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei

Der Gehalt an Carotinoiden in ökologischen Eiern wird weder durch Lagerungsprozesse noch durch Konservierungsverfahren zerstört. Ausgehend von nur schwachen Auswirkungen der o.g. Verfahren, war es abschließend sinnvoll, auf der Seite der Konsumenten zusätzlich „Zubereitungsverfahren“ zu betrachten, die einen möglichen Einfluss auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei haben können. Dazu wurden gekochte Eier und Rühreier untersucht.

4.4.1. Kochen

Jeweils 12 Eier wurden ungekocht (Nullprobe), 5 min gekocht und 10 min gekocht und anschließend unverzüglich gemessen. Aus Abbildung 37 wird gut ersichtlich, dass 5 min kochen keinen Effekt auf den Gehalt an Carotinoiden hat.

Überraschenderweise steigt allerdings der Gehalt an Carotinoiden nach 10 min kochen stark an. Zur detaillierten Betrachtung dieses Anstiegs soll die Regressionsanalyse aus Tabelle 15 dienen.

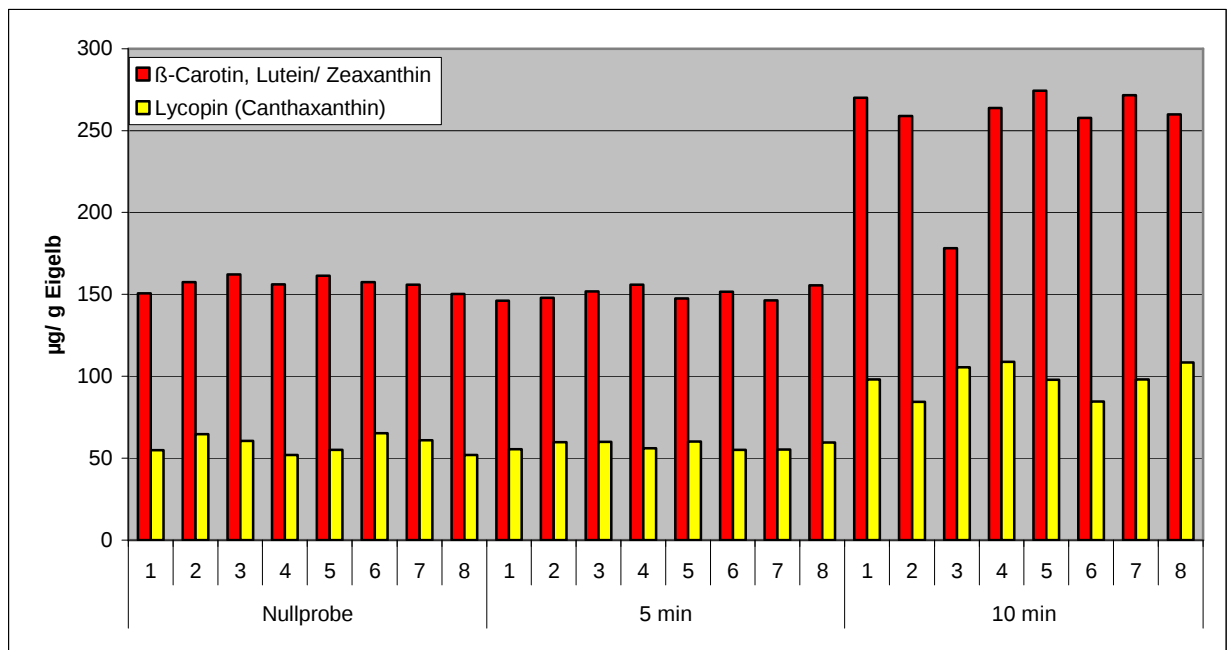


Abbildung 38: Konzentrationen von β- Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin und Lycopin ungekocht, 5 min und 10 min gekocht, n = 36

Tabelle 15: Statistische Regressionsanalyse, ungekochte und gekochte Eier n = 24

Statistische Regressionsanalyse Kochen- Öko- Eier									
Versuchsreihe	nm	Regressions- koeffizient	Regr.Koeff. in % von Nullpr	t- Test	Bestimmt- heitsmaß	F- Test	%-Anstieg von Nullpr-10min Mittelwertvergl	p- value	Korrelations- koeffizient
6) Verarbeitungsversuche µg/ g Eigelb hier n= 24; Dauer: 10 min									
gesamt	488	90,13	57,7%	2,07	0,80	4,3	64,3%	P< 0,01 **	r
	514	34,96	60,4%	H _A	0,78	H _A	64%	P< 0,01 **	0,88

Zur statistisch einwandfreien Auswertung sind für die Regressionsanalyse nur die ungekochten (Nullproben) und 10 min gekochten Eier einbezogen worden. Die 5 min gekochten Eier hätten die Ergebnisse verfälscht. Mit Korrelationskoeffizienten von $r_{488} = 0,89$ und $r_{514} = 0,88$ und P- Werten unter 0,01 kann von einem engen Zusammenhang mit hoher statistischer Signifikanz ausgegangen werden. Vergleicht man die Mittelwerte der ungekochten Eier mit den 10 min gekochten Eier, so lässt sich ein jeweils 64%iger Anstieg der Carotinoide der gekochten Eier feststellen. Die Regressionsfunktionen in Abbildung 39 visualisieren diesen Zusammenhang.

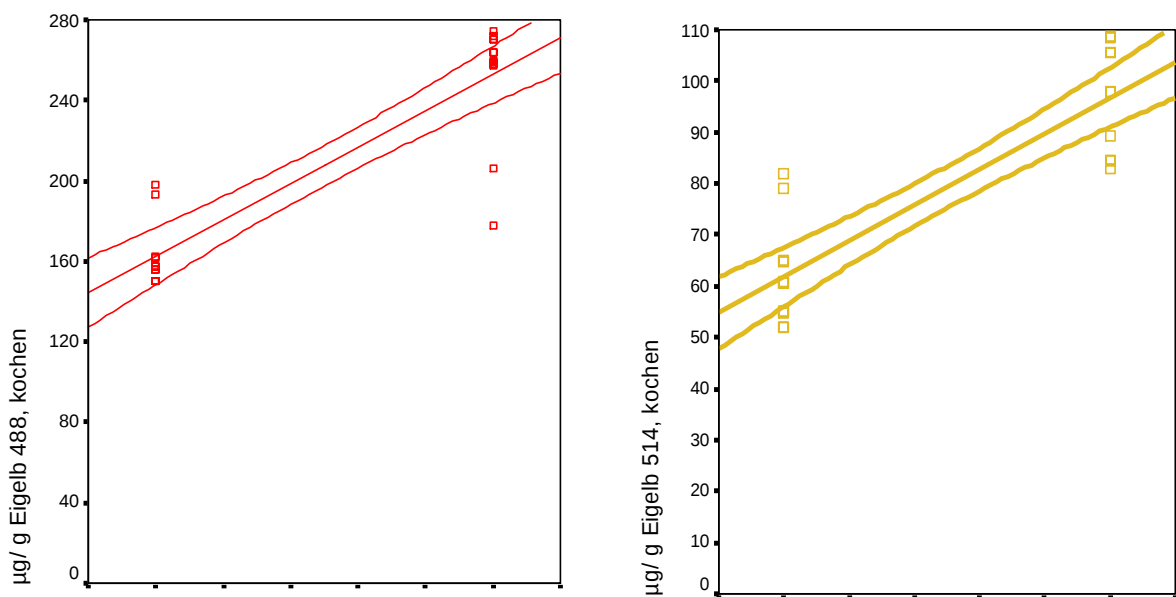


Abbildung 39: Regressionsfunktionen von β - Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin (rot) und Lycopin (gelb) von ungekochten und gekochten Eiern, jeweils $n = 24$

Vergleicht man die Zunahme der Werte nach 10 min Kochen mit ähnlichen Ergebnissen aus der Literatur, so lässt sich ein Anstieg gut erklären. Das relativ hitzestabile β - Carotin und sehr hitzestabile Lycopin unterliegen bei Hitzeeinfluss Isomerisationseffekten. So sind z.B. für behandelte Tomatenprodukte (wie Tomatensaft, -ketchup und -soße) höhere Lycopingehalte identifiziert worden als für unbehandelte Tomaten (STAHL ET AL, 1996). Studien im Rahmen des BMBF- Leitprojektes „Verbesserte gesundheitliche Qualität von Lebensmitteln durch Carotinoide“ an Möhrenhomogenisaten und Tomaten haben gezeigt, dass mit thermischen Verarbeitungsverfahren die Bioverfügbarkeit von Lycopin gesteigert werden konnte (BEHSNILIAN ET AL, 2004).

Desweiteren ist zu beachten, dass durch Erhitzen die Bindungen von Carotinoiden zu Proteinen gespalten werden, kristalline Carotinoid- Aggregate gelöst und Zellverbände zerstört werden. Daraus resultiert zum einen eine bessere Bioverfügbarkeit der Carotinoide und zum anderen aber auch die Abnahme der Lagerungsstabilität der Carotinoide (STAHL ET AL, 1992).

4.4.2. Rührei

Jeweils 6 Eier (nur das Eigelb) wurden ungebraten, 5 min und 10 min zu Rührei verarbeitet (ohne Zusätze wie Öl oder Butter) gemessen. Aus der Darstellung der Werte in Abbildung 39 ist ersichtlich, dass die Werte für das 5 min- Rührei teilweise ansteigen oder

geringfügig sinken bzw. unverändert bleiben. Nach 10 min Rühreizubereitung ist kein Gehalt an Carotinoiden mehr messbar.

Ausgehend von den Ergebnissen der gekochten Eier wird angenommen, dass zunächst ebenso ein Anstieg des Carotinoidgehalts durch Zellaufschluss und Isomerisationseffekte durch Temperatureinwirkung gegeben ist. Durch direkten Sauerstoffeinfluss, Licht und sehr viel größerer Hitzeeinwirkung als beim Kochen werden die Carotinoide allerdings bei längerer Behandlungsdauer (> 5 min) zerstört. Eine statistische Auswertung dieser Versuche war aufgrund der hohen Varianz der Werte nicht möglich.

Zudem ist anzumerken, dass die Messung der Carotinoidwerte durch den Raman- Laser problematisch war, da die homogene Struktur des Eigelbs durch extreme Koagulation und Ausflockung zerstört wurde.

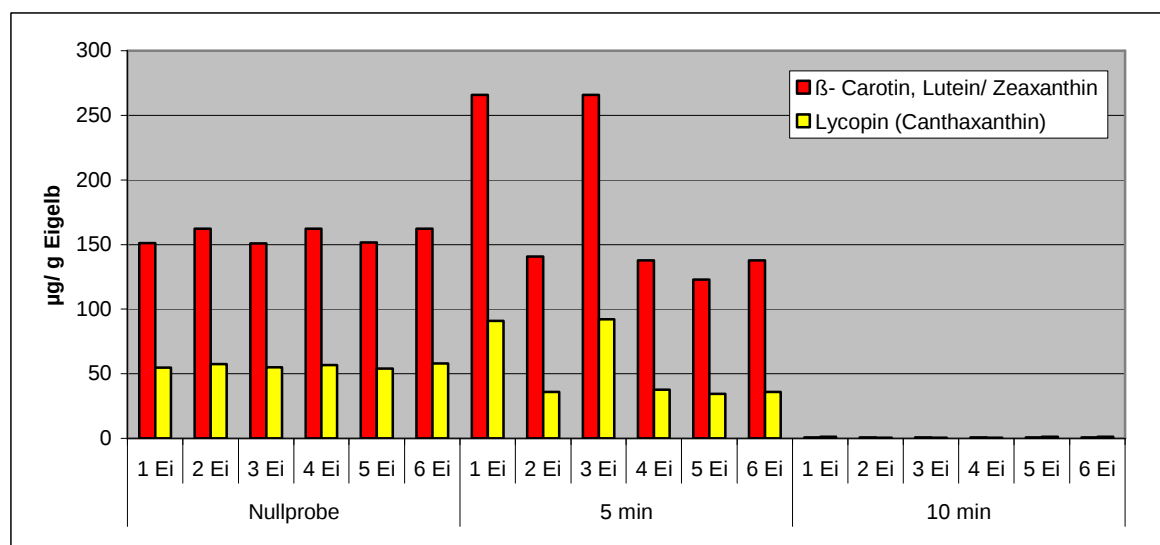


Abbildung 40: β- Carotin, Lutein/ Zeaxanthin und Lycopinwerte für Rührei, n = 18

4.5 Effekte auf den Carotinoidstatus des Menschen bei Verzehr von ökologischen Eiern

Ausgehend von den Ergebnissen der Untersuchungen der Zubereitungsverfahren in privaten Haushalten, im speziellen von hohen Gehalten an Carotinoiden in gekochten Eiern (10 min) lag es nahe zu prüfen, inwieweit der hohe Gehalt der Carotinoide sich auf den Mensch niederschlägt.

Aus aktuellen Forschungsergebnissen wird klar, dass ein beachtlicher Wirkungsbereich der Carotinoide die Unterstützung des antioxidativen Potentials der menschlichen Haut ist. Neben Schutz vor UV- induzierten Schäden und Hautkrebs beugt ein ausreichendes

antioxidatives Potential zudem der Hautalterung vor (LADEMANN ET AL, 2005). Desweiteren wurde in aktuellen Studien nachgewiesen, dass Carotinoide, die mit der Nahrung durch Verzehr von Obst und Gemüse aufgenommen wurden, sich mit einer Zeitverzögerung von etwa 1 bis 3 Tagen in der Haut anreichern (DARWIN, 2006).

Zur Identifikation eines möglichen positiven Effektes aus einem Verzehr von ökologischen Eiern (von Hennen die nach der VO (EWG) 2092/91 gehalten wurden) auf das antioxidative Schutzpotential in der menschlichen Haut wurden Untersuchungen an fünf Probanden durchgeführt. Diese haben über einen Zeitraum von 5 Tagen jeweils 2 ökologische Eier pro Tag verzehrt (die Eier wurden zuvor 10 min gekocht). Im Rahmen der Studie wurde der Gehalt von Antioxidantien der Probanden vor dem Konsum der Eier sowie im Rahmen einer ersten Pilotstudie während der Phase des Konsums der Öko- Eier mittels Raman- Spektroskopie gemessen.

Es wurde festgestellt, dass es bei allen Probanden zu einer Zunahme der Konzentration von β - Carotin und Lycopin in der Haut kam. Der Anstieg betrug im Mittel etwa 17 %. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass Stressfaktoren und Einflüsse der Lebensbedingungen sich direkt auf den Gehalt der Antioxidantien auswirken können, so dass probandenspezifische Unterschiede zu erklären sind. Unabhängig davon aber lässt sich klar nachweisen, dass ein Verzehr von ökologischen Eiern nach entsprechender Behandlung (10 min kochen) eine Verbesserung des antioxidativen Potentials der Haut erzeugt. Bisher war nur ein Anstieg des Luteingehaltes im Blut nach Verzehr von (konventionellen) Eiern bekannt. HANDELMAN ET AL haben nach einer einmonatigen Diät von 1,3 Eigelb pro Tag einen signifikanten Anstieg von Lutein (ca. 28 %) und Zeaxanthin im Plasma festgestellt (HANDELMAN ET AL 1999).

Vor dem Hintergrund, dass Umwelteinflüsse wie Sonnenstrahlung, Ozonbelastung und Umweltschadstoffe Radikale in der Haut produzieren und damit eine Hautschädigung bewirken können, ist ein positiver Effekt des Verzehrs von ökologischen Eiern auf das antioxidative Potential der menschlichen Haut umso bemerkenswerter.

Hinzu kommt, dass DARVIN ET AL (2006) zeigen konnten, dass ein hoher Gehalt von Lycopin in der Haut die Hautalterung stark verzögert. Damit sind ökologische Eier nicht nur ein Bestandteil einer gesunden Ernährung sondern können auch für den kosmetischen Bereich eine besondere Bedeutung haben.

5. SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICK

Ausgehend von den gewonnenen Erkenntnissen aus Sekundärdaten und den im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuchsreihen, ist es möglich weitreichende Schlussfolgerungen zu ziehen.

Zunächst kann die angewendete Raman- spektroskopische Untersuchungsmethode als ein vielversprechendes Analyseelement identifiziert werden. Der Nachweis ist erbracht, dass sich der Carotinoidgehalt im Ei als Marker für die ökologische Haltung nach der VO (EWG) 2092/91 der Legehennen nutzen lässt. Dabei muss ein Einsatz der Raman- Spektroskopie als Qualitätskontrollelement nicht auf die Bewertung von Eiern beschränkt werden, sondern kann auch auf andere Nahrungsmittel, speziell Obst und Gemüse angewendet werden. Die Raman- Spektroskopie eröffnet neue Perspektiven bei der Produktbewertung und – sicherheit.

Parallel zum logischen Aufbau der Arbeit und Datenexploration sollen die folgenden Ausführungen in die landwirtschaftliche Produktion, den lebensmitteltechnologischen Bereich und den Bereich der Konsumenten gegliedert werden.

5.1. Landwirtschaftliche Produktion

Zur intensiven öffentlichen Diskussion der Käfighaltung gegenüber der ökologischen Legehennenhaltung konnte ein objektiver Beitrag geleistet werden. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen auf, dass neben tierschutzorientierten bzw. ethisch motivierten Gründen auch andere, sich nachweislich positiv auf den Menschen auswirkende Effekte, die ökologische Freilandhaltung von Hühnern bedeutsam machen: Eier aus ökologischer Haltung nach der VO (EWG) 2092/91 weisen einen signifikant höheren Gehalt an Carotinoiden auf, der sich letztendlich auf den Menschen auswirkt. Es wurde der Beweis erbracht, dass die ökologische Erzeugung von Eiern eine Quelle für die Versorgung mit Carotinoiden darstellen kann. Der sonst nur auf ethischen Aspekten beruhende Nutzen der ökologischen Legehennenhaltung konnte auf ein weiteres Argument ausdehnt werden, welches objektiv quantifizierbar ist.

Die vorgestellten Sekundärdaten und Ergebnisse aus selbst durchgeführten Versuchen zeigen eine herausragende Bedeutung von Carotinoiden innerhalb der embryonalen sowie postnatalen Entwicklung des Kükens. Durch eine gute Carotinoidversorgung im Ei ist die

Sterberate von Küken nach Schlupf herabgesetzt, das Immunsystem stärker ausgebildet und die allgemeine Versorgung mit Nährstoffen verbessert. Für den landwirtschaftlichen Bereich und im speziellen für die Vermehrungsbetriebe sollte sich daraus die Konsequenz ergeben, für einen erheblich verbesserten Carotinoidstatus der Elterntiere zu sorgen. Es sind Ergebnisse geliefert worden, nach denen der Einsatz neuer Techniken zur Abschirmung der Elterntiere und Küken vor Umwelteinflüssen kritisch durchdacht werden muss und zukunftsweisende Ansätze im Rahmen einer besseren Carotinoidversorgung der Elterntiere vorangetrieben werden sollten. Aus Sekundärdaten wurde gezeigt, dass nicht nur die Küken von einer verbesserten Carotinoidversorgung profitieren, sondern dass neben den allgemein bekannten positiven Wirkungen von Carotinoiden im Metabolismus es zudem den Elterntieren möglich ist, das eigene Immunsystem durch Abgabe von passiver Immunität in Form von Carotinoiden ins Ei/ an das Küken (anstatt aktiver Immunität in Form von Immunoglobinen) zu schonen. In dieser Tatsache liegt ein weiterer Grund, der die Vermehrungsbetriebe zu einem Überdenken ihrer Strategie und eventuell zu einer neuen Ausrichtung führen sollte.

Denn Vögel und Geflügel, die in einem natürlichen Lebensraum leben, weisen nicht grundlos sehr viel höhere Carotinoidwerte im Ei auf. Neue Ansätze der landwirtschaftlichen Legehennen- sowie Hühnerhaltung in Vermehrungsbetrieben, die eine Versorgung mit Carotinoiden intensiver forcieren, stellen folglich das optimierte *natürliche* System wieder her.

In diesem Zusammenhang soll ebenfalls auf das Risiko einer künstlich- systemischen Gabe von Carotinoiden über das Futter hingewiesen werden. Denn schlussfolgernd lässt sich feststellen, dass der Carotinoidmetabolismus im Tier sowie der Huhn- Ei Carotinoidmetabolismus ein derart optimiertes System darstellen, das nachweislich durch einen künstlichen Eingriff von außen in ein Ungleichgewicht gerät und oft mit Depression bestimmter Stoffe reagiert.

Abschließend soll die Bezeichnung von KOVACS- NOLAN ET AL (2005), die die Henne über die Produktion von Eiern als einen „Bioreaktor für die Produktion von medizinisch relevanten Substanzen für den Menschen“ bezeichnet haben, die Akteure im landwirtschaftlichen Bereich dazu auffordern, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit aufgezeigten Möglichkeiten auszunutzen und durch innovative Ansätze umzusetzen.

5.2. Lebensmitteltechnologie

Die Ergebnisse aus den Versuchsreihen zur Lagerung- sowie lebensmitteltechnologischen Konservierung von Eiern haben gezeigt, dass durch sachgemäße Behandlung der Eier und Eiprodukte sehr geringe bis keine negativen Auswirkungen auf den Gehalt an Carotinoiden in ökologischen Eiern bestehen. Eine fachgerechte Konservierung von Eiern, besonders vor dem Hintergrund einer Inaktivierung von Salmonellen, ist demzufolge Carotinoid- schonend möglich.

Die detaillierte Betrachtung der Konservierungsprozesse hat belegt, dass die Konservierung von Eiern durch Hochdruck möglicherweise Potentiale aufweist, den Gehalt an Carotinoiden im Ei (Flüssigei) zu steigern. Ausgehend von entsprechenden Ergebnissen im Bereich von Tomatenprodukten, wird hier im Rahmen einer Carotinoiderhöhung bzw. Aufschluss auf einen Forschungsbedarf zur Prozessoptimierung der Hochdruckkonservierung von Flüssigeiern unter dem Aspekt der Carotinoidanreicherung hingewiesen. Dieser Ansatz erscheint besonders viel versprechend, da nachgewiesen wurde, dass durch Hochdruckanwendung bei Eiprodukten ebenfalls eine Inaktivierung von Salmonellen möglich ist (PONCE ET AL, 1999).

Eine Studie von SURAI ET AL (2001) die unter anderem über die künstliche Anreicherung von Lutein (über die Henne) im Ei, das Ei als „Funktional Food“ untersucht, soll mit Verweis auf die Ergebnisse aus dem landwirtschaftlichen Bereich kritisch gewürdigt werden. Die als „Designer Eggs“ bezeichneten Eier, sollen angereichert mit mehreren wichtigen Substanzen ein breites Nährstoffspektrum abdecken. Daneben aber weisen SURAI ET AL auf eine andere interessante Tatsache hin: die mit Lutein angereicherten Eier weisen gegenüber herkömmlichen Eiern eine größere Lagerungsstabilität auf, da durch ein erhöhtes antioxidatives Potential Stoffe vor oxidativem Abbau geschützt werden. Folgernd aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit kann somit angenommen werden, dass der identifizierte höhere Gehalt von Carotinoiden in ökologischen Eiern diesen ebenfalls ein erhöhtes antioxidatives Schutzsystem und folglich eine verlängerte Lagerungsstabilität gegenüber konventionellen Eiern verleihen.

Für Eiprodukte ergeben sich aus dieser Tatsache noch sehr viel weiterreichende Konsequenzen. Denn im Rahmen einer Weiterverarbeitung mit anderen Lebensmitteln (siehe z.B. Backwaren- und Teigwarenindustrie) könnte der höhere Gehalt an Carotinoiden in ökologischen Eiern, der auch nachweislich durch Konservierungsprozesse nicht zerstört wird, eine bedeutende Quelle für den antioxidativen Schutz gegen das Verderben (z.B. gegen Lipidoxidation) anderer Lebensmittel darstellen. Erste Forschungsansätze dazu sind an Rindfleisch- und Thunfisch- Homogenisaten durchgeführt worden. Nach Zusatz von Eigelb ist ein verbesserter antioxidativer Status

sowie eine verringerte Lipidoxidation (allerdings hier am Beispiel von Eigelb- Protein-Hydrolysat) nachgewiesen worden (SAKANAKA, 2006).

Für die Akteure im lebensmitteltechnologischen Bereich ergibt sich nicht nur, durch Anwendung geeigneter Konservierungsverfahren, unter Umständen die Möglichkeit den Gehalt an Carotinoiden im Ei zu erhöhen- in diesem Bereich konnte ein vielversprechender Forschungsbedarf identifiziert werden- sondern auch die Chance am höheren Gehalt von Carotinoiden im ökologischen Ei zu profitieren. Denn es ist davon auszugehen, dass Lebensmittel, die mit ökologischen Eiern weiterverarbeitet werden, durch einen verbesserten antioxidativen Status länger lagerungsstabil sind.

5.3. Konsument

Basierend auf den Ergebnissen der Versuche zur Verarbeitung von Eiern in privaten Haushalten, sollte den Konsumenten empfohlen werden Eier 10 Minuten zu kochen. Parallel zu ähnlichen Ergebnissen aus der Literatur (Möhren, Tomaten, Gemüse allgemein) ist nachgewiesen, dass durch Kochen (10 min) der Gehalt an Carotinoiden im ökologischen Ei erheblich erhöht wird und in letzter Konsequenz auch in der menschlichen Haut nachzuweisen ist.

Auf der einen Seite existiert ein weiterer Forschungsbedarf zu den Auswirkungen von Verarbeitungsprozessen wie dem Braten von Spiegeleiern oder den Auswirkungen verschiedener Zusätze (Öl, Salz, Zucker); auf der anderen Seite aber ist gezeigt worden, dass das (Öko-) Ei eine höchst bioverfügbare Ressource für Carotinoide darstellt und das antioxidative Potential im Menschen (hier nachgewiesen an der menschlichen Haut) verbessert. Dieser Tatsache kommt unter dem Aspekt der Krankheitsvorsorge und des kosmetischen Bereiches eine besondere Bedeutung zu. Denn hohe Konzentrationen von Antioxidanten beugen einer Hautschädigung durch Umwelteinflüsse und einer Hautalterung vor (LADEMAN, 2005).

Zum Ende des Produktlebenszyklus des Eies kann der Wert der ökologischen Legehennenhaltung vor dem Hintergrund, dass Carotinoide in Eiern besser bioverfügbar sind als z.B. in Spinat oder in Nahrungsergänzungsmitteln (CHUNG ET AL, 2004) umso stärker hervorgehoben werden.

Zur intensiv diskutierten Cholesterin Problematik ist folgendes festzuhalten. Der hohe Carotinoidstatus von ökologischen Eiern liefert zugleich einen Schutz gegen die Arterienverkalkung durch Cholesterin mit. Ein Schlüsselprozess der Arterienverkalkung ist die Oxidation von LDL und daraus resultierende Ablagerung von Cholesterin an den

Arterienwänden. Es ist nachgewiesen worden, dass Carotinoide LDL vor einer Oxidation schützen können (CHOPRA ET AL, 1999).

Da einerseits nach einer 8- jährigen Studie an über 110.000 Personen (in den USA) kein Zusammenhang zwischen dem täglichen Konsum von 1 Ei und Kardiovaskulären Erkrankungen nachgewiesen worden ist (HU ET AL, 1999) und andererseits die sehr hohe Nährstoffdichte sowie nachgewiesene antioxidative Wirkung von Eiern auf den Menschen zu bemerken sind, kann zusammenfassend der positive Nährwert von Eiern hervorgehoben werden.

Herausfordernd soll abschließend folgende Tatsache aufgeführt werden: der allgemein gute Gesundheitszustand der Bevölkerung von Ländern wie z.B. Japan (sehr hohe Lebenserwartung, wenig Herz- Kreislauferkrankungen) wird unter anderem auf eine gesunde sowie fettarme Ernährung zurückgeführt. In Japan und China werden auch weltweit die meisten Eier pro Kopf verzehrt (für 2005: Japan: 330 Stk./Kopf/Jahr China: 300 Stk./Kopf/Jahr; KALLHAMMER, 2006).

6. ZUSAMMENFASSUNG

Antioxidantien, speziell Carotinoide können im menschlichen Organismus nicht gebildet werden. Sie müssen mit der Nahrung aufgenommen werden. Hierbei spielen Obst und Gemüse eine besondere Rolle, da sie hohe Anteile an Gemischen von Antioxidantien beinhalten. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist es gelungen nachzuweisen, dass auch tierische Nahrungsmittel, wie Eier hohe Konzentrationen von Antioxidantien enthalten können, wenn sie aus einer ökologischen Haltung nach VO (EWG) 2092/91 stammen.

Dem Nachweis, dass es sich bei Eiern tatsächlich um Eier von ökologisch gehaltenen Hennen handelt, kommt unter dem Gesichtspunkt des Verbraucherschutzes und dem Vertrauen der Konsumenten in das Produkt eine große Bedeutung zu.

Ausgehend von den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist es gelungen, ein Analysesystem, basierend auf Raman- spektroskopischen Messungen zu entwickeln, mit dem ökologische Eier von Eiern aus nicht ökologischer Haltung unterschieden werden können. Grundlage dieser Differenzierung ist die Tatsache, dass speziell β - Carotin und Lycopin nur bei der ökologischen Haltung von den Legehennen aufgenommen werden und sich im Eigelb widerspiegeln.

Bisher waren solche Untersuchungen nur mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) möglich. Diese Methode ist sehr teuer und zeitaufwändig. Im Gegensatz dazu war es mit der spektroskopischen Methode möglich, den Gehalt von Antioxidantien in Produkten und in der menschlichen Haut nichtinvasiv und online zu bestimmen.

Es konnte klar zwischen ökologischen Eiern und Eiern aus nicht ökologischer Haltung differenziert werden. Dabei zeigte sich, dass kein Einfluss verschiedener Rassen/ Hybridzuchtlinien existiert. Innerhalb der konventionellen Haltung konnte gezeigt werden, dass verschiedene Haltungsverfahren ebenfalls keinen Einfluss auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei hatten.

Darüber hinaus wurde die Kinetik der Anreicherung von Carotinoiden im Ei bei Umstellung der Haltungsform untersucht. Es zeigte sich, dass ein Anstieg des Gehalts an Carotinoiden im Eigelb bei einer Umstellung zur ökologischen Haltung bereits nach 7 Tagen nachzuweisen war. Eine Sättigung trat nach 38 Tagen ein. Auf dem Carotinoid- angereicherten Niveau der ökologischen Haltung konnten Auswirkungen bis hin zum Wettereinfluss auf den Gehalt an Carotinoiden im Ei identifiziert werden, der aber die Differenzierung zwischen ökologischer und nicht ökologischer Haltung nicht beeinflusst hat.

Der zweite Teil der Arbeit bezog sich auf die Bewertung unterschiedlicher Arten der Lagerung und Konservierung von (ökologischen) Eiern. Ziel war es hier, die optimalen Formen zu ermitteln, durch die der hohe Gehalt an Carotinoiden erhalten bleibt und dem menschlichen Organismus möglichst verlustfrei zugeführt werden kann.

In diesem Zusammenhang wurden die Auswirkungen auf den Gehalt von Carotinoiden verschiedener Lagerungsverfahren (gekühlt/ nicht gekühlt) sowie unterschiedlicher Konservierungsverfahren untersucht.

Überraschenderweise zeigte sich, dass die Carotinoide während der sachgemäßen Lagerung und Konservierung in der Matrix des Eigelbs sehr stabil sind und nahezu verlustfrei mit der Nahrung aufgenommen werden können.

Dass sich der Gehalt der Carotinoide beim Kochen von Eiern noch erhöht, war auffallend, entspricht allerdings völlig den Beobachtungen, welche beim Kochen von Tomaten gemacht wurden.

Im letzten Teil der Untersuchungen wurde im Rahmen einer Prinzipstudie der Nachweis erbracht, dass sich Carotinoide, welche mit gekochten Ökoeiern aufgenommen wurden, in der menschlichen Haut anreichern.

Dieser Beobachtung kommt unter dem Gesichtspunkt der Gesundheitsprophylaxe und des kosmetischen Aspektes eine besondere Bedeutung zu, speziell wenn man die in der Literatur publizierten Ergebnisse berücksichtigt, dass hohe Konzentrationen von Antioxidanten der Hautschädigung durch Umwelteinflüsse und der Hautalterung entscheidend entgegen wirken.

Der einfache Nachweis von Carotinoiden und die Dokumentation ihrer Anreicherung im tierischen Produkt, während der Verarbeitung und letztlich in der menschlichen Haut tragen zur Stärkung des Vertrauens der Verbraucher in die Qualität von Lebensmitteln bei.

Die vorgestellte Untersuchungsmethode ist nicht auf den Einsatz bei der Bewertung von Eiern beschränkt sondern auch auf andere Nahrungsmittel, speziell Obst und Gemüse anwendbar. Sie eröffnet neue Perspektiven bei der Produktbewertung und – sicherheit.

7. SUMMARY

Carotenoids, just as all other antioxidants, can not be produced by the human organism, so that their uptake with nutrition is essential. Fruits and vegetables have an outstanding role, since they supply a high amount of mixtures of such antioxidants. In this thesis it is proven, that non-vegetable food, such as chicken-eggs, can contain high amounts of carotenoids if they were raised in organic agriculture.

The proof that these eggs in fact have origin from hens of organic agriculture is of tremendous interest for the consumers and of great importance towards consumer protection to legitimate trust in the product.

By the results from this thesis it was achieved to develop an analysis system based on Raman-spectroscopic measurements with which eggs from organic agriculture can be discriminated from eggs of regular/ non-organic agriculture. Basis for this differentiation is the fact that β -carotene and lycopene, which occur in egg yolk, can only be uptaken by hens in organic agriculture that have access to woodland.

Up to now, these measurements were only possible with the proceeding of high-pressure liquid chromatography (HPLC). Such measurements though are expensive and time-consuming. In contrast to that, with the spectroscopical measurements it became possible to measure antioxidant levels in products and in the human skin online and non-invasively.

Differentiation between eggs from regular production and eggs from organic agriculture proved clearly to be possible. It was shown, that the different breeding of hens have no influence on the amount of carotenoids within the egg yolk. Furthermore it was shown that within the regular forms of capture there is also no difference.

Additionally kinetics of enrichment of the carotenoid concentration within the egg after change of capturement was measured: risen levels changes could be shown after 7 days in organic agriculture, saturation was reached after 38 days. In the saturated level, influences e.g. weather on the level of antioxidants could be identified independently from the different levels between organic and regular agriculture.

The second part of this thesis is on the different methods of storage and conservation of organic agricultural eggs. The aim was to find the best way to preserve the high levels of carotenoids within the egg in order to provide us with the highest amounts in nutrition. Impact of different forms of storage and conservation on the carotenoid levels was measured. Surprisingly it could be shown that carotenoids within the egg matrix in properly stored and conserved eggs are very stable and can almost entirely be up taken with nutrition. A risen carotenoid level in boiled eggs could be shown, similarly to what is known for cooked tomatoes.

The last part shows, as a proof of principle, that carotenoids which are uptaken with nutriture of boiled eggs enrich in human skin and can be measured with our method.

This aspect is of significance in terms of prophylaxis and wellness, especially when taking into account that high antioxidant levels are supposed to prevent from environmental influences and skin ageing.

Feasible and reproducible measurements of carotinoid levels in non-vegetable foods and the enrichment in human skin after consumption will lead to better trust of the consumers in the quality of foods.

The introduced method is not limited on the use in eggs, but can also be used in validation of other foods, such as fruits and vegetables. New vistas are opened up towards validation of nutritional products.

8. LITERATURVERZEICHNIS

Albers, N.; Heimbeck, W.; Keller, T.; Seehawer, J.; Tran, T.D. (2001): Vitamine in der Tierernährung, Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung; Verlag Agrimedia und Deutscher Fachverlag

Amiali, M.; Ngadi, M.O.; Smith, J.P.; Raghavan, G.S.V. (2006): Synergistic effect of temperature and pulsed electric field on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* in liquid egg yolk; Journal of Food Engineering, in press

Arroyo, G.; Sanz, P.D.; Prestamo, G. (1997): Effect of high pressure on the reduction of microbial populations in vegetables, Journal of Applied Microbiology, 82: 735- 742

Astley, S.B., Elliot, R.M., Archer, D.B., Southon, S. (2002): Increased cellular carotenoid levels reduce the persistence of DNA single-strand breaks after oxidative challenge, Nutr. Cancer, 43 (2); 202- 213

ATBC Cancer Prevention Study Group (1994): The effect of vitamin E and beta- carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers, N. Engl. J. Med. 300(15): 1029- 1035

Augustine, S.H.; Tee, E.S. (1992): Natural Sources of Carotenoids from Plants and Oils, Meth Enzymol, 213: 142- 167

Barbosa-Cánovas, G.V.; Sepúlveda, D. (2005): Present status and the future of PEF technology in: Novel Food Processing Technologies, Barbosa- Cánovas, G.V.; Tapia, M.S.; Pilar Cano, M.; CRC Press, Washington

Barsotti, L.; Dumay, E.; Hua Mu, T.; Fernandez- Diaz, E.D.; Cheftel, J.C. (2002): Effects of high voltage electric pulses on protein- based food constituents and structures, Trends in Food Science and Technology, 12: 136- 144

Basu, T.K.; Dickerson, J.W. (1996): Vitamins in Humans Health and Disease, CAB International, Wallingford

Baur, S.; Klaiber, R.; Hammes, W.P.; Carle, R. (2004): Sensory and microbiological quality of shredded, packaged iceberg lettuce as affected by pre- washing procedures with chlorinated and ozonated water, Innovative Food Science and Emerging Technologies, in press

Behnlian, D.; Idda, P.; Mayer- Miebach, E.; Schuchmann, H.P. (2004 a): Verbesserte gesundheitliche Qualität von Lebensmitteln durch Carotinoide; BMBF Leitprojekt; in: Schuchmann, H.P., Hoffmann, N. Jahresbericht 2004; Institut für Verfahrenstechnik

Behnlian, D.; Mayer- Miebach, E.; Hoffmann, N.Q. (2004 b): Mechanische und enzymatische Aufschlussverfahren zur Anreicherung des Zeaxanthingehaltes von Kartoffelprodukten, Jahresbericht 2004; Institut für Verfahrenstechnik

Bergquist, D.H. (1995): Egg Dehydration in: Egg Science and Technology, Hrsg. Stadelman, W.J.; Cotterill, O.J., 4. Auflage, Food Product Press, NY

Biard, C.; Surai, P.F.; Moller, A.P. (2005): Effects of carotenoid availability during laying on reproduction in the blue tit, *Oecologia* 144: 32- 44

Biesalski, K.H. (1997): Betacarotin; in: Biesalski, K.H.; Schrezenmeir, J.; Weber, P.; Weiß, H.: Vitamine, Physiologie, Pathophysiologie, Therapie; Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 20- 33

Blount, J.D.; Surai, P.F.; Nager, R.G.; Houston, D.C.; Moller, A.P.; Trewby, M.L.; Kennedy, M.W. (2002): Carotenoids and egg quality in the lesser black-backed gull *Larus fuscus*: a supplemental feeding study of maternal effects; *Proc. R. Soc. Lond., B* 269: 29- 36

Bortolotti, G.R.; Negro, J.J.; Surai, P.F.; Prieto, P. (2003): Carotenoids in Eggs and Plasma of Red- Legged Partridges: Effects of Diet and Reproductive Output, *Physiol Biochem Zool* 76, 3: 367- 374

Brown, A.F. (1988): Kunstbrut- Handbuch für Züchter, Verlag M. & H. Schaper, Dt. Bearbeitung Aschenbrenner, H., Alfeld- Hannover

Calderón- Miranda, M.L.; Barbosa- Cánovas, G.V.; Swanson, B.G. (1999): Inactivation of *Listeria innocua* in liquid whole egg by pulsed electric fields and nisin; *International Journal of Food Microbiology* 51: 7- 17

Césarini, J.P., Michel, L., Maurette, J.M., Adhoute, H., Béjot, M. (2003) : Immediate effects of UV radiation on the skin : modification by an antioxidant complex containing carotenoids ; *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 19: 182- 189

Chung, H.Y.; Rasmussen, H.M.; Johnson, E.J. (2004): Lutein bioavailability is higher from lutein- enriched eggs than from supplements and spinach in men, *Journal of Nutrition*, 134, 8: 1887- 1893

Chopra, M.; Thurnham, D.I. (1999): Antioxidants and lipoprotein metabolism, *Proceedings of the Nutrition Society* 58: 663- 671

Condón, S.; Raso, J.; Pagán, R. (2005): Microbial inactivation by ultrasound; **in:** *Novel Food Processing Technologies*, Barbosa- Cánovas, G.V.; Tapia, M.S.; Pilar Cano, M.; CRC Press, Washington

Cotterill, O.J. (1995): Egg Products Industry **in:** *Egg Science and Technology*, Hrsg. Stadelman, W.J.; Cotterill, O.J., 4. Auflage, Food Product Press, NY

Cotterill, O.J.; McBee, L.E. (1995): Egg Breaking **in:** *Egg Science and Technology*, Hrsg. Stadelman, W.J.; Cotterill, O.J., 4. Auflage, Food Product Press, NY

Cunningham, F.E. (1995): Egg- Product Pasteurization **in:** *Egg Science and Technology*, Hrsg. Stadelman, W.J.; Cotterill, O.J., 4. Auflage, Food Product Press, NY

Craft, N.E. (1992): Carotenoid Reversed- Phase High- Performance Liquid Chromatography Methods: Reference Compendium, *Meth. Enzymol* 213: 185- 205

Darvin, M.; Gersonde, I.; Albrecht, H.; Jacobi, U.; Sterry, W.; Lademann, J. (2003): Nicht-invasive Bestimmung von β - Carotin und Lycopin in der menschlichen Haut, *Labor Welt*, 6: 36- 37

Darvin, M.; Gersonde, I.; Albrecht, H.; Gonchukov, S.A.; Sterry, W.; Lademann, J. (2005): Determination of Beta- Carotene and Lycopene Concentrations in Human Skin Using Resonance Raman Spectroscopy, *Laser Physics* 15, 2: 295- 299

Darvin, M.; Gersonde, I.; Albrecht, H.; Meinke, M.; Sterry, W.; Lademann, J. (2006): Non-invasive in vivo detection of the carotenoid antioxidant substance lycopene in the human skin using the resonance Raman- spectroscopy, *Laser Physics Letters*, in press

Darwin, M.; Schanzer, S.; Teichmann, A.; Blume- Peytavi, U.; Sterry, W.; Lademann, J. (2006): Functional Food und Bioverfügbarkeit im Zielorgan Haut, *Hautarzt*, 57: 286- 290

Destatis, Statistisches Bundesamt (2005): Land- und Forstwirtschaft, Fischerei: Geflügel, Fachserie 3 Reihe 4.2.3, Bezugsjahr 2004; Statistisches Bundesamt, Wiesbaden

During, A.; Harrison, E.H. (2005): An in vitro model to study the intestinal absorption of carotenoids, *Food Research International*, 38: 1001- 1008

Edge, R. Mc Garvey, D.J. Truscott, T.G. (1997): The carotenoids as anti- oxidants – a review; *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 41: 189- 200

Erdman, J.W.; Bierer, T.L.; Gugger, E.T. (1993): Absorption and transport of carotenoids, *Ann N Y Acad Sci* 691: 76- 85

Ermakow, I.V., Ermakova, M.R.; Gellermann, W., Lademann, J. (2004): Non- invasive selective detection of lycopene and β - carotene in human skin using Raman spectroscopy, *J Biomed Opt* 9 (2): 332- 338

Fernie, K.J., Bird, D.M. (2001): Evidence of Oxidative Stress in American Kestrels exposed to Electromagnetic Fields, *Environ Res, Sec. A*, 86: 198- 207

Franke, K. (2000): Neue Konservierungsmethoden, Verbraucherschutz, Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten

Giovannucci, E. (1999): Tomatoes, tomato-based products, Lycopene und Cancer: Review of the Epidemiologic Literature; *J. Natl. Cancer Inst.* 91: 317- 331

Góngora- Nieto, M.M.; Pedrow, P.D.; Swanson, B.G.; Barbosa-Cánovas, G.V. (2003): Energy analysis of liquid whole egg pasteurized by pulsed electric fields, *Journal of Food Engineering* 57: 209- 216

Goodwin, T.W. (1986): Metabolism, nutrition and function of carotenoids, *Ann. Rev. Nutr.* 6, 273- 297

Güzel- Seydim, Z.; Bever, P.I.; Greene, A.K. (2004 a): Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components; *Food Microbiology*, 21: 475- 479

Güzel- Seydim, Z.; Greene, A.K.; Seydim, A.C. (2004 b): Use of ozone in food industry; *Lebensmittel Wissenschaften und Technologie*, 37: 453- 460

Hamscher, G. (2005): Rückstände und Kontaminanten in konventionell und ökologisch erzeugten Lebensmitteln: Gibt es produktionsbedingte Unterschiede?, *Werstattbericht 11: Konventionelle – ökologische Lebensmittel: Ein Vergleich*, Heinrich Stockmeyer Stiftung, 42- 57

Handelman, G.J.; Nightingale, Z.D.; Lichtenstein, A.; Schaefer, E.; Blumberg, B. (1999): Lutein and zeaxanthin concentrations on plasma after dietary supplementantation with egg yolk, *Am J Clin Nutr*, 70: 247- 251

Hassenberg, K.; Herppich, W. B.; Idler, C.; Fröhling, A.; Popelar, P.; Geyer, M.; Schlüter, O. (2006): Ozontes Wasser zur Qualitätssicherung bei Waschmöhren, *Landtechnik*, 60, 6: 350- 351

Heinz, V.; Knorr, D. (2001): Effects of high pressure on spores, Ch. 4; **in:** *Ultra High Pressure Treatments of Foods*, Food Engineering Series; Hendrickx, M.E.G.; Knorr, D. (Ed.), Kluwer Academic, New York

Heinz, V.; Alvarez, I.; Angersbach, A.; Knorr, D. (2002): Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields- basic concepts for process design, *Trends in Food Science & Technology* 12: 103- 111

Heinz, V.; Knorr, D. (2005): High- Pressure Assisted Heating as a Method for Sterilizing Foods, Ch. 10; **in:** *Novel Food Processing Technologies*, Barbosa- Cánovas, G.V.; Tapia, M.S.; Pilar Cano, M.; CRC Press, Washington

Hu, F.B.; Stampfer, M.J.; Rimm, E.B.; Manson, J.E.; Ascherio, A.; Colditz, G.A.; Rosner, B.A.; Spiegelman, D.; Speizer, F.E.; Sacks, F.M.; Hennekens, C.H.; Willett, W.C. (1999): A prospective study of egg consumption and risk of cardiovascular disease in men and women, JAMA the journal of the American Medical Association 281, 15: 1387- 1394

Hughes, D. A. (1999): Effects of carotenoids on human immune function; Proc Nutr Soc; 58: 713- 718

Horie, Y.; Kimura, K.; Hori, K. (1991) : Development of a new fruit processing method by high hydrostatic pressure ; Journal of the Agricultural Chemistry Society of Japan, 65, 10: 1469- 1474; **aus:** Lee, D.U. (2002): Application of combined non- thermal treatments for the processing of liquid whole egg; Dissertation, Berlin University of Technology, Department of Food Biotechnology and Food Process Engineering

Hou, M.; Singh, R.K.; Muriana, P.M.; Stadelman, W.J. (1996): Pasteurization of intact shell eggs, Food Microbiology 13: 93- 101

Institut für ökologische Wirtschaftsforschung, Öko- Institut e.V., Schweisfurth- Stiftung, Freie Universität Berlin, Landesanstalt für Großschutzgebiete (2004): Agrobiodiversität entwickeln, Handlungsstrategien für eine nachhaltige Tier- und Pflanzenzucht, Endbericht Berlin 2004, Fallstudie Huhn

Jiang, Y.H.; McGeachin, R.B.; Bailey, C.A. (1994): Alpha- tocopherol, beta- carotene and retinol enrichment of chicken eggs, Poultry Science 73, 7: 1137- 1143

Junghans, A., Sies, H., Stahl, W. (2000): Carotenoid- containing unilamellar liposomes loaded with glutathione: a model to study hydrophobic-hydrophilic antioxidant interaction, Free Rad. Res. 33: 801- 808

Kallhammer, W. (2006): Entwicklungen am Eiermarkt auf europäischer und globaler Ebene, International Egg Commission , London, Vortrag Geflügelproduktionstag Wintertagung 2006, Hatzendorf

Karadas, F.; Pappas, A.C.; Surai, P.F.; Speake, B. (2005): Embryonic development within carotenoid- enriched eggs influences the post- hatch carotenoid status of chicken, Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, 141: 244- 251

Kim, J.G.; Yousef, A.E.; Khadre, M.A. (2003): Ozone and its current and future application on the food industry; *Advances in Food and Nutrition Research*, 45: 167- 218

Kirchgeßner, M. (1997): *Tierernährung, Leitfaden für Studium, Beratung und Praxis*, Verlags Union Agrar, Frankfurt a.M., 10. Auflage

Knorr, D.; Schlüter, O.; Heinz, V. (1998): Impact of high hydrostatic pressure on phase transitions of foods, *Food Technology* 52, 9: 42- 45

Knorr, D.; Angersbach, A.; Eshtiaghi, M.N.; Heinz, V.; Lee, D.U. (2001): Processing concepts based on high intensity electric fields pulses, *Trends in Food Science and Technology* 12: 129- 135

Knorr, D.; Zenker, M.; Heinz, V.; Lee, D.U. (2004): Applications and potential of ultrasonics in food processing; *Trends in Food Science and Technology*, 15: 261- 266

Knorr, D.; Heinz, V.; Buckow, R. (2006): High pressure application for food biopolymers, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764: 619- 631

König, H.E.; Liebich, H.G. (2001): *Anatomie und Propädeutik des Geflügels*, Lehrbuch, Verlag Schattauer Stuttgart, New York

Koutsos, E.A.; Clifford, A.J. Calvert, C.C.; Klasing, K.C. (2003): Maternal carotenoid status modifies the incorporation of dietary carotenoids into immune tissues of growing chickens (*gallus gallus domesticus*); *J. Nutr.* 133: 1132- 1138

Kovacs-Nolan, J.; Phillips, M.; Mine, Y. (2005): Advances in the Value of Eggs and Egg Components for Human Health, *J. Agric. Chem*, 53: 8421- 8431

Kreutzig, T. (1997): *Biochemie*, 9. aktualisierte Auflage, Verlag Gustav Fischer

Krinsky, N.I. (2001): Carotenoids as Antioxidants, *Nutrition* 17: 815- 817

Krinsky, N.I.; Johnson, E. (2005): Carotenoid actions and their relation to health and disease, *Molecular Aspects of Medicine*, 26: 459- 516

Lademann, J.; Darvin, M.; Schanzer, S. (2005): Cutaneous concentration of lycopene closely correlates with roughness of the skin, *Journal of Biomedical Optics*, submitted

Lee, D.U.; Park, J.Y.; Kang, J.I., Yeo, I.H. (1996): Effect of high hydrostatic pressure on the shelf life and sensory characteristics of Angelica keiskei juice; Korean Journal of Food Science and Technology, 28,1: 105- 108; **aus:** Lee, D.U. (2002): Application of combined non- thermal treatments for the processing of liquid whole egg; Dissertation, Berlin University of Technology, Department of Food Biotechnology and Food Process Engineering

Lee, D.U. Heinz, V.; Knorr, D. (1999): Evaluation of Processing criteria for the high pressure treatment of liquid whole egg: rheological study; Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 32: 299- 304

Lee, D.U. Heinz, V.; Knorr, D. (2003): Effects of combination treatments of nisin and high intensity ultrasound with high pressure on the microbial inactivation in liquid whole egg, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 4: 387- 393

Lee, D.U. (2002): Application of combined non- thermal treatments for the processing of liquid whole egg; Dissertation, Berlin University of Technology, Department of Food Biotechnology and Food Process Engineering

Leeson, S.; Caston, L. (2004): Enrichment of eggs with lutein, Poultry Science, 83: 1709- 1712

Lin, C.H.; Chen, B.H. (2005): Stability of carotenoids in tomato juice during storage, Food Chemistry, 90: 837- 846

Lindhauer, M.G. (2003): Forschungsbericht 2003, Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Institut für Getreide-, Kartoffel- und Stärketechnologie, 11- 51

Ludikhuyze, L.; Hendrickx, M.E.G. (2001): Effects of High Pressure on Chemical Reactionss Related to Food Quality **in:** Ultra High Pressure Treatments of Foods, Food Endineering Series; Hendrickx, M.E.G.; Knorr, D. (Ed.), Kluwer Academic, New York

Mañas, P.; Pagán, R.; Alvarez, I.; Condón Usón, S. (2003): Survival of Salmonella Senftenberg 775 W to current liquid whole egg pasteurization treatments, Food Microbiology, 20: 593- 600

Marquadt, B.J.; Wold, J.P. (2004): Raman- analysis of fish: a potential method for rapid quality screening, *Lebensm. Wiss. Technol.* 37: 1- 8

Marquis, R.E. (1975): High- Pressure microbial physiology, *Advanced Microbial Physiology*, 11: 159- 241

Martín-Belloso, O.; Bendicho, S.; Elez-Martínez, P.; Barbosa-Cánovas, G.V. (2005): Does high-intensity pulsed electric fields induce changes in enzymatic activity, protein conformation and vitamin and flavor stability? **in:** *Novel Food Processing Technologies*, Barbosa- Cánovas, G.V.; Tapia, M.S.; Pilar Cano, M.; CRC Press, Washington

Mc Namara, D.J. (1999): Nutrition- Nutrition News for health care providers, Vol. 3, No.2, *Nutrition Realities*

Methner, U. (2003): Zum Vorkommen von Salmonellen bei Legehennen in unterschiedlichen Haltungsformen, 22. Jenaer Symposium: Zoonosen des Geflügels

Ollilainen, V.; Heinonen M.; Linkola, E.; Varo, P. Koivistoinen, P. (1989): Carotenoids and retinoids in Finnish foods: dairy products and eggs, *J. Dairy Sci.*, 72 (9): 2257- 2265

Olmedilla, B., Granado, F.; Blanco, I.; Vaquero, M. Cajigal, C. (2001): Lutein in patients with cataracts and age- related macular degeneration: a long- term supplementation study; *J.Sci. Food Agric.* 81: 904- 909

Omenn, G.S., Goodman. G.E., Thornquist, M.D., Balmes, J. Cullen, M.R. Glass, A. Keogh, J.P. Meyskens, F.L. Valanis, B. Williams, J.H. Barnhart, S. Cherniack, M.G, Brodtkin, C.A. Hammar, S. (1996): Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the beta- carotene and retinol efficacy trial; *J. Natl. Cancer Inst.* 88 (21): 1550- 1559

Pagán, R.; Condón, S.; Raso, J. (2005): Microbial inactivation by pulsed electric fields **in:** *Novel Food Processing Technologies*, Barbosa- Cánovas, G.V.; Tapia, M.S.; Pilar Cano, M.; CRC Press, Washington

Palozza, P. Krinsky, N.I. (1992): Antioxidant Effects of Carotenoids in Vivo and in Vitro: An overview, *Methods in Enzymology*, 213: 403- 420

Panfili, G.; Fratianni, A.; Irano, M. (2004): Improved normal- phase high performance liquid chromatography procedure for the determination of carotenoids in cereals, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 21.: 6373- 6377

Parker, R.S.; Swanson, J.E.; You, C.S.; Edwards, A.; Huang, T. (1999): Bioavailability of carotenoids in human subjects, *Proc Nutr Soc*, 58: 155- 162

Pelz, R; Schmidt- Faber, B.; Hesecker, H. (1998): Carotenoid intake in the German Natinal Food Consumption Survey, *Ernährungswissenschaft*, 37, 4: 319- 327

Pfander, H.P. (1992): Carotenoids: An Overview, *Methods in Enzymology*, 213: 3- 13

Piyasena, P.; Mohareb, E.; McKellar, R.C. (2003): Inactivation of mircobes using ultrasound: a review; *International Journal of Food Mircobiology*, 87: 207- 216

Pötter, C. (2003): Einsatz von Möhrentrester in der Legehennenfütterung im Vergleich zu konventionellen Alleinfuttermitteln mit beziehungsweise ohne künstlichem β - Carotin, Dissertation, Institut für Tierernährung, Tierärztliche Hochschule Hannover

Ponce, E.; Pla, R.; Capellas, M.; Guamis, B. ; Mor- Mur, M. (1998) : Inactivation of *Escherichia coli* inoculated in liquid whole egg by high hydrostatic pressure, *Food Mircobiology*, 15: 265- 272

Ponce, E.; Pla, R.; Sendra, E.; Guamis, B. ; Mor- Mur, M. (1999) : Destruction of *Salmonella enteritidis* inoculated in liquid whole egg by high hydrostatic pressure: comparative study in selective and non- selective media; *Food Microbiology*, 16: 357- 365

Preisinger, R. (2004): Agrarbiodiversität aus Sicht eines weltweit aktiven Hühnerzuchtunternehmens, Lohmann Tierzucht Cuxhaven, Vortrag Tagung: Agrobiodiversität entwickeln, Feb. 2004 Umweltforum Berlin www.agrobiodiversitaet.net

Qiu, W.; Jiang, H.; Wang, H.; Gao, Y. (2006): Effect of high hydrostatic pressure on lycopene stability, *Food Chemistry*, 97: 516- 523

Rao, V., Agrawal, S. (2000): Role of antioxidant Lycopene in Cancer and Heart Disease; *J. Am. Coll. Nutr.* 19: 563 – 569

Rissanen, T.; Voutilainen, S. ; Nyyssonen, K. Salonen, R.; Jukka, T. (2000): Low plasma lycopene concentration is associated with increased intima- media thickness of the carotid artery wall; *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20: 2677- 2681

Rodriguez- Amaya, D.B. (2001): A Guide to carotenoid analyses in foods, OMNI Research, ILSI –International Life Science Institute, Human Nutrition Institute, Washington D.C.

Sakanaka, S., Tachibana, Y. (2006): Active oxygen scavenging activity of egg yolk protein hydrolysates and their effects on lipid oxidation in beef and tuna homogenates, *Food Chemistry* 95: 243- 249

Santos- Bocanegra, E.; Ospina- Osorio, X.; Oviedo- Rondón, E.O. (2004): Evaluation of Xanthophylls extracted from *tagetes erectus* (marigold flower) and *capsicum* sp. (red pepper paprika) as a pigment for egg yolks compare with synthetic pigments, *Internat J Poult Sci*, 3,11: 685- 689

Schaeffer, J.L.; Hamilton, P.B. (1990): Effect of dietary lipid on lutein metabolism during aflatoxicosis in young broiler chickens, *Poultry Science*,69: 53

Schreier, P. (2002): Funktionalität von Lycopin und Lutein, Lehrstuhl Lebensmittelchemie, Bayerische Julius- Maximilians- Universität Würzburg

Sheldon, B.W.; Brown, A.L. (1986): Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water, *Journal of Food Science*, 51, 2: 305- 309

Smelt, J.P.; Hellemons, J.C.; Patterson, M. (2001): Effects of high pressure on vegetative microorganisms, Ch. 3; 55- 76 **in:** *Ultra High Pressure Treatments of Foods*, Food Engineering Series; Hendrickx, M.E.G.; Knorr, D. (Ed.), Kluwer Academic, New York

Spieß, G; Klapötke, T. (1999): Einführung in die Raman- Spektroskopie, LMU

Stadelman, W.J. (1995): The Preservation of Quality in Shell Eggs; **in:** *Egg Science and Technology*, Hrsg. Stadelman, W.J.; Cotterill, O.J., 4. Auflage, Food Product Press, NY

Stahl, W.; Sies, H. (1992): Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans, *Journal of Nutrition* 122, 11: 2161- 2166

Stahl, W.; Sies, H. (1996): Lycopene: A Biochemical Important Carotenoid for Humans?; *Arch Biochem Biophys*, 336;1: 1- 9

Statistisches Bundesamt (2004): Erzeugung von Geflügel, Fachserie 3, Reihe 4.2.3 und Viehbestand und tierische Erzeugung, Fachserie 3, Reihe 4 2004, www.destatis.de

Sundquist, A.R., Briviba, K., Sies, H. (1996): Singlet Oxygen Quenching by Carotenoids, *Methods in Enzymology*, 234: 384- 388

Surai, P.F.; Noble, R.C. ; Speake, B.K, (1996) : Tissue- specific differences in antioxidant distribution and susceptibility to lipid peroxidation during development of the chick embryo, *Biochimica et Biophysica Acta* 1304: 1- 10

Surai, P.F.; Speake, B.K. (1998): Distribution of carotenoids from the yolk to the tissues of the chick embryo, *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 9: 645- 651

Surai, P.F.; Ionov, I.A.; Kuchmistova, E.F.; Noble, R.C.; Speake, B.K. (1998 a): The Relationship between the levels of α -Tocopherol and Carotenoids in the maternal feed, yolk and neonatal tissues: comparison between the chicken, turkey, duck and goose, *J Sci. Food Agric*, 76: 593- 598

Surai, P.F.; Ionov, I.S.; Kuklenko, T.V.; Kostjuk, I.A.; MacPherson, A.; Speake, B.K.; Noble, R.C.; Sparks, N.H. (1998 b): Effect of supplementing the hen's diet with vitamin A on the accumulation of vitamin A und E, ascorbic acid and carotenoids in the egg yolk and in the embryonic liver, *British Poultry Science* 39: 257- 263

Surai, P.F.; Speake, B.K.; Wood, N.A.; Blount, J.D.; Bortolotti, G.R.; Sparks, N.H. (2000): Carotenoid discrimination by the avian embryo: a lesson from wild birds; *Comp. Biochem. Physiol. B*: 128, 4: 743-750

Surai, P.F.; Kuklenko, T.V.; Ionov, I.A.; Noble, R.C.; Sparks, N.H. (2000 b): Effect of vitamin A on the antioxidant system of the chick during early postnatal development, *British Poultry Science* 41: 454- 458

Surai, P.F.; Sparks, N.H.C. (2001): Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food; Trends in Food Science & Technology 12: 7- 16

USDA (2004): US Department of Agriculture, Agricultural Research Service 2004, USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 17. Nutrient Data Laboratory Home Page: www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp

Vainio, H.; Rautalahti, M. (1998): An international evaluation of the cancer preventive potential of carotenoids; Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 7 (8); 725- 728

Van het Hof, K.H.; West, C.E.; Weststrate, J.A.; Hautvast, J. (2000): Dietary factors that affect the bioavailability of Carotenoids, J. Nutr., 130: 503- 506

Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 des Rates vom 24. Juni 1991 über den ökologischen Landbau und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel

Verordnung (EWG) Nr. 2295/2003 des Rates vom 23. Dezember 2003 mit Durchführungsbestimmungen zur Verordnung (EWG) Nr. 1907/90 des Rates über bestimmte Vermarktungsnormen für Eier

Vortisch, H. (2002): Beobachtung von Phasenübergängen in einzeln levitierten Schwefelsäuretröpfchen mittels Raman- Spektroskopie und elastischer Lichtstreuung, FU-Berlin, Dissertation Fachbereich Physik

Walz, E. (2004): Einsatz eines Magen- Darm-Modells zur Beurteilung einer thermischen Behandlung von Karottenmus im Hinblick auf eine Änderung der Carotenoidzusammensetzung; in: Schuchmann, H.P., Hoffmann, N. Jahresbericht 2004; Institut für Verfahrenstechnik

Watzel, B.; Bub, A. (2001): Carotenoide, Ernährungsumschau 48, Bundesforschungsanstalt für Ernährung/ Institut für Ernährungsphysiologie

Watzl, B.; Bub, A.; Briviba, K.; Rechkemmer, G. (2003): Supplementation of a Low-Carotenoid Diet with Tomato or Carrot Juice Modulates Immune Functions in Healthy Men, Ann Nutr Metab 47: 255- 261

Wartewig, S.; Neubert, R. (2005): Pharmaceutical applications of Mid- IR and Raman-spectroscopy, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57: 1144- 1170

Wouters, P.C. (2001): Pulsed electric field- Inactivation of microorganisms; Dissertation, Berlin University of Technology, Department of Food Biotechnology and Food Process Engineering

Wouters, P.C.; Alvarez, I.; Raso, J. (2001) : Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing ; *Trends in Food Science & Technology* 12 : 112- 121

Yang, S.-C.; Baldwin, R.E. (1995): Functional Properties of Eggs in Foods **in**: *Egg Science and Technology*, Hrsg. Stadelman, W.J.; Cotterill, O.J., 4. Auflage, Food Product Press, NY

Yuste, J.; Pla, R.; Mor- Mur, M. (2000) : *Salmonella enteritidis* and aerobic mesophiles in inoculated poultry sausages manufactured with high pressure processing; *Letters in Applied Microbiology*, 31: 374- 377

Zenker, M.; Heinz, V.; Knorr, D. (2003): Application of ultrasound assisted thermal processing for preservation and quality retention of liquid foods, *Journal of Food Protection*, 66, 9: 1642- 1649

Zenker, M. (2004): Ultraschall kombinierte Prozessführung bei der Pasteurisierung und Sterilisierung flüssiger Lebensmittel, Dissertation, Berlin University of Technology, Department of Food Biotechnology and Food Process Engineering

Zhang, L.; Lu, Z.; Yu, Z.; Gao, X. (2005): Preservation of fresh- cut celery by treatment of ozonated water, *Food Control*, 16: 279- 283

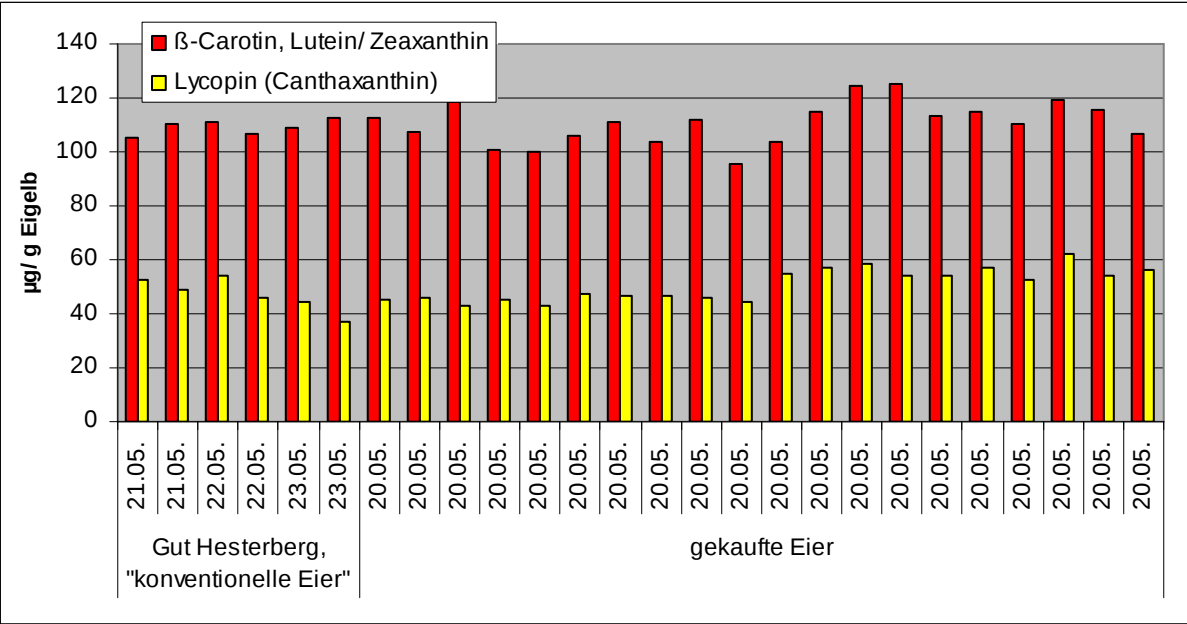
Zheng, L., Sun, D.W. (2006): Innovative applications of power ultrasound during food freezing process- a review; *Trends in Food Science and Technology*, 17: 16- 23

Zile, M.H. (2004): Vitamin A requirement for early cardiovascular morphogenesis specification in the vertebrate embryo: insights from the avian embryo; *Exp. Biol. Med.* 229: 598- 606

ZMP (2004): ZMP Marktbilanz: Eier und Geflügel 2004, www.zmp.de

ANHANG

Vergleich von gekauften Eiern aus Käfighaltung und konventionellen Eiern aus eigener Haltung, n = 26



Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Variance
488,eigene Eier	6	104,8929	112,6662	109,0897	2,791921326	7,795
514, eigene Eier	6	37,038889	54,222222	47,11296	6,210954985	38,576
488, gekaufte Eier	20	95,211555	124,8444	110,7429	7,929626661	62,879
514, gekaufte Eier	20	43,111111	62,138889	50,73056	5,858294539	34,320

Statistische Werte zum Vergleich verschiedener Rassen:

Konventionell: Bovans GL und LB (Lohmann Tierzucht)
n= 30

Descriptive Statistics

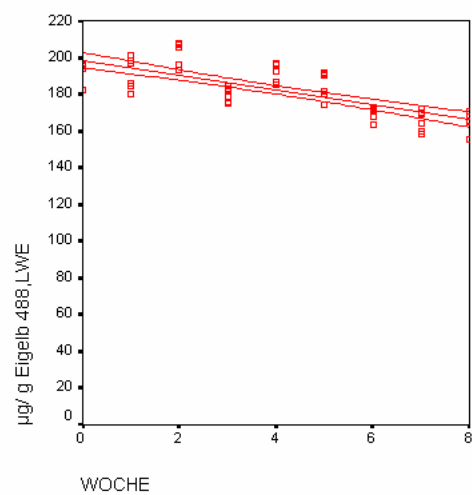
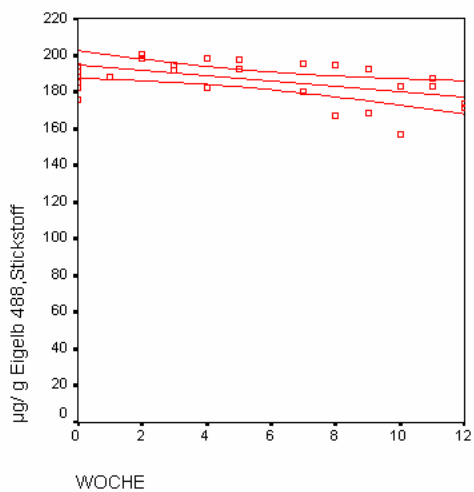
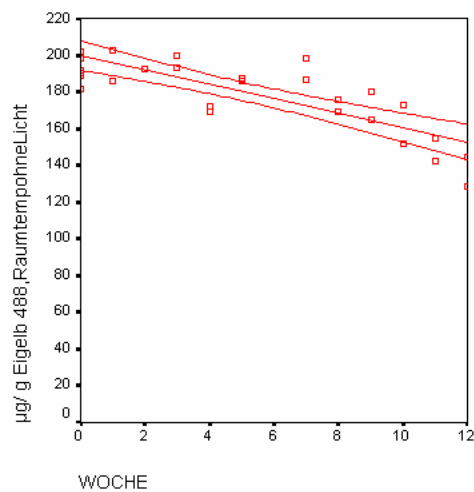
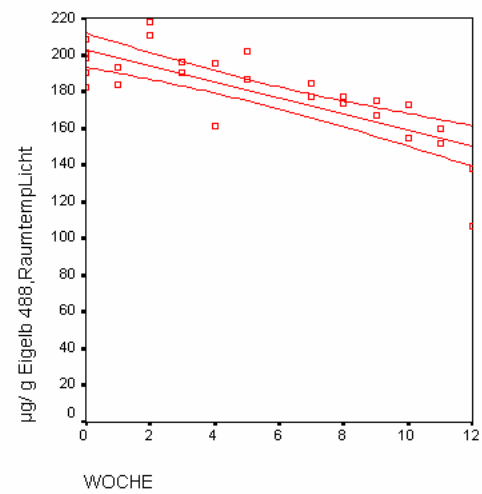
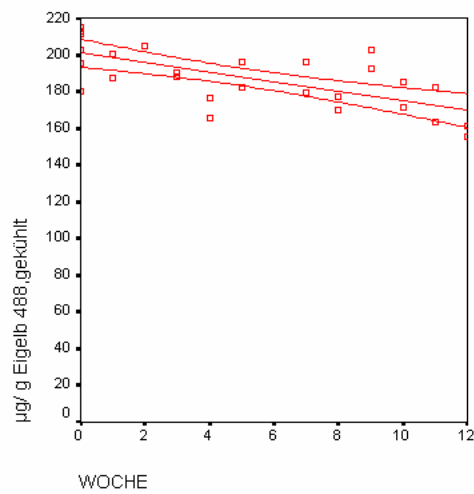
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Variance
488nm,BovansGL	30	86,354667	123,5253	100,5210	11,537446463	133,113
514nm,BovansGL	30	43,833333	90,708333	51,62639	14,591982156	212,926
488nm,LB	30	95,046667	118,5787	106,6407	6,742113729	45,456
514nm,LB	30	42,875000	47,375000	45,42639	1,387360987	1,925
Valid N (listwise)	30					

Ökologisch: White Leghorn und Braune Bovans
n = 20

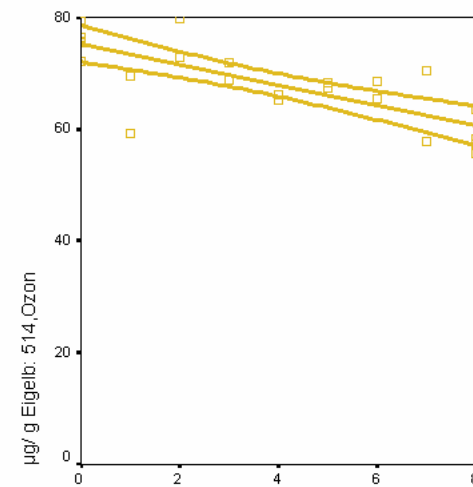
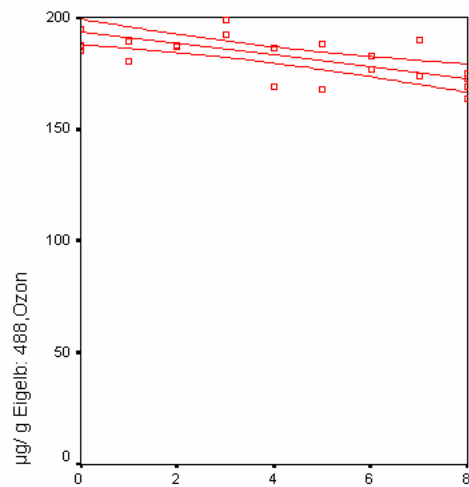
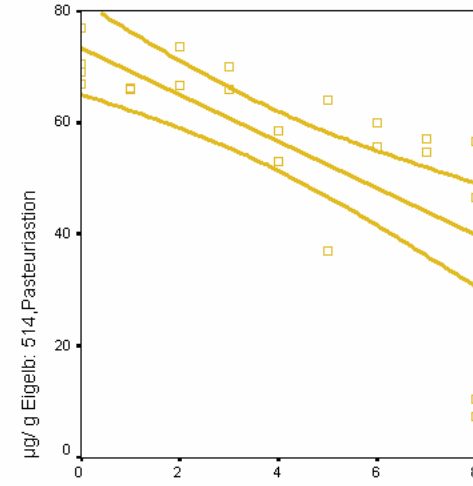
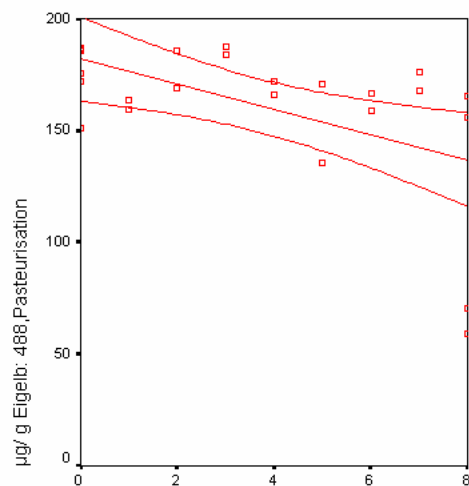
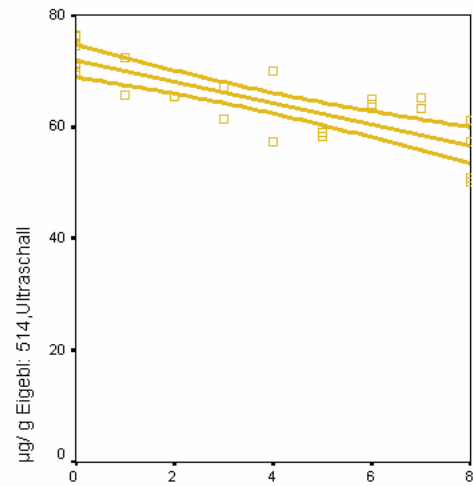
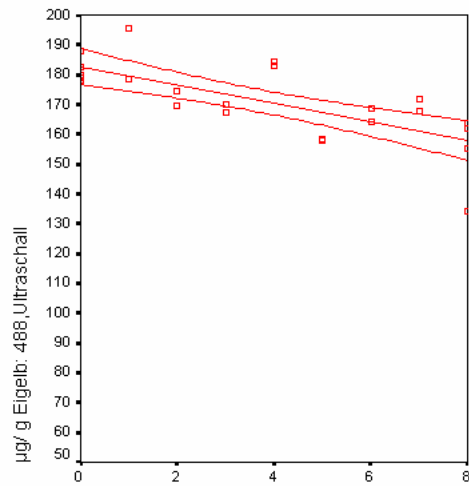
Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Variance
488,ÖKOWhiteLeghorn	20	177,4440	232,1400	201,3470	15,584706997	242,883
514,ÖKOWhiteLeghorn	20	49,208333	109,5000	73,24375	16,027293458	256,874
488,ÖKO,Bovans	20	171,2253	257,8627	199,3436	27,431890925	752,509
514,ÖKO,Bovans	20	61,125000	92,041667	73,34375	7,734596959	59,824
Valid N (listwise)	20					

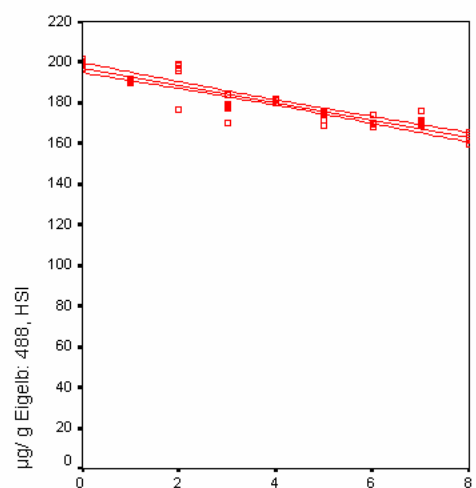
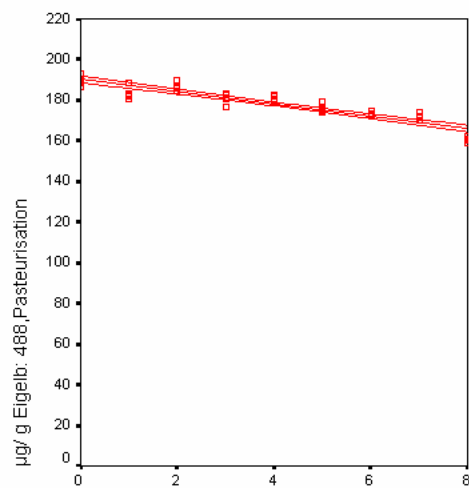
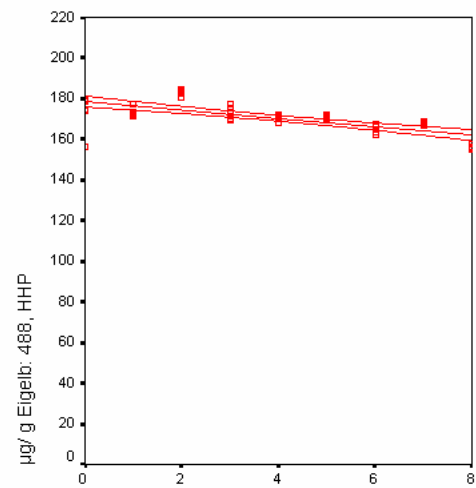
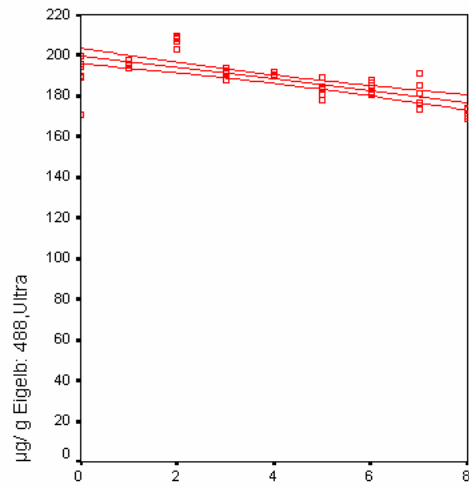
Regressionsfunktionen der 5 Lagerungsverfahren von β - Carotin/ Lutein/ Zea- xanthin (Dauer: 12 Wochen); n = 30



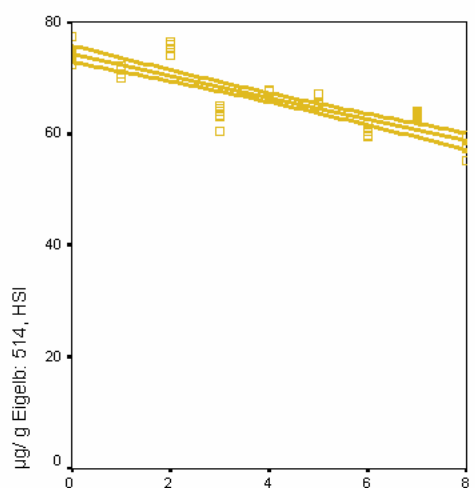
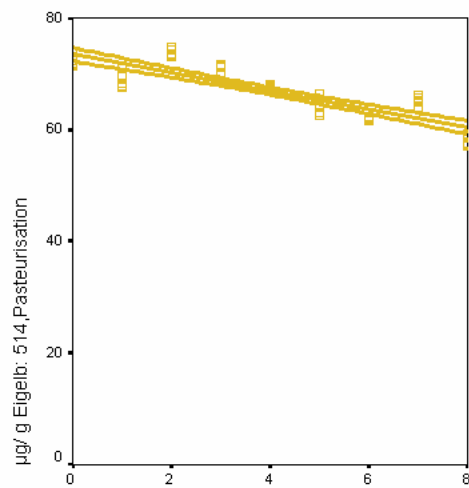
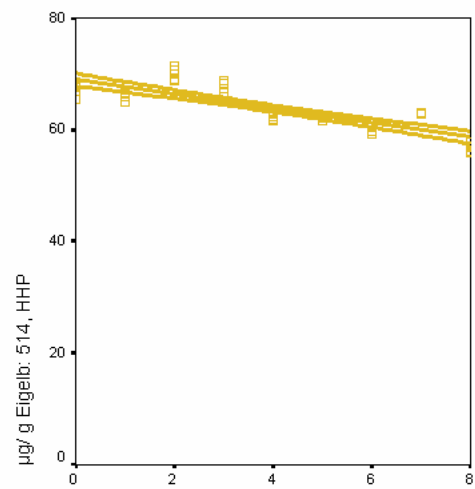
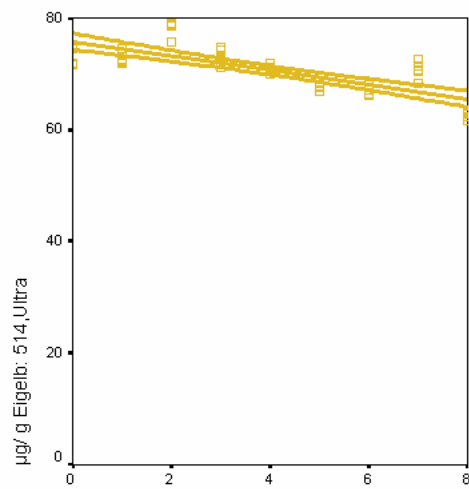
Regressionsfunktionen der Konservierungsverfahren der Schaleeneier von β -Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin (rot) und Lycopin/ Canthaxanthin (gelb) (Dauer: 8 Wochen); n = 26



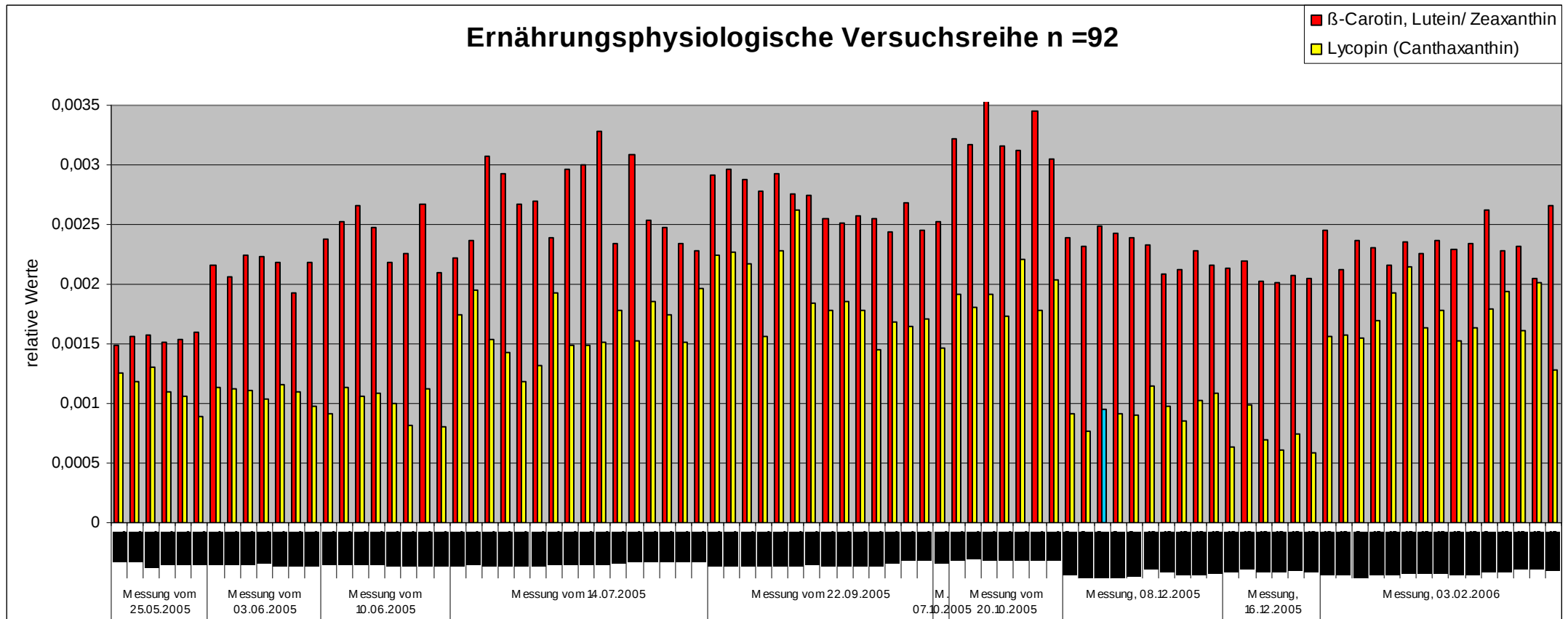
Regressionsfunktionen der Konservierungsverfahren der Flüssigeier von β -Carotin/ Lutein/ Zeaxanthin (Dauer: 8 Wochen); n = 58



Regressionsfunktionen der Konservierungsverfahren der Flüssigeier von Lycopin/ Canthaxanthin (Dauer: 8 Wochen); n = 58



Vergrößerung von Abbildung 28:
Darstellung der beobachteten Werte der gesamten ernährungsphysiologischen Versuchsreihe



DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr.- Ing. Jürgen Lademann, ohne dessen Anleitung, Ideen und tatkräftigen Unterstützung die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Nicht minder möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dietrich Knorr bedanken, der mir für meine Arbeit entscheidende Impulse gab und mir wichtige Blickwinkel zu Abrundung der Arbeit aufgezeigte.

Ihnen beiden danke ich ausdrücklich für die sehr persönliche und intensive Betreuung. Sie haben mir einen Einblick in die wissenschaftliche Arbeitsweise gewährt, den ich als besondere und wertvolle Erfahrung mitnehmen darf.

Desweiteren gilt mein herzlicher Dank Maxim Darwin, der mir sein Wissen und tatkräftige Unterstützung bei der Anwendung der Raman- spektroskopischen Methodik zur Verfügung gestellt hat. Die erhobenen Ergebnisse sind auch mit sein Verdienst.

Bei Stefan Boguslawski möchte ich mich für die Hilfe bei der Durchführung der Konservierungsmethoden und Hilfsbereitschaft bei lebensmitteltechnologischen Fragen bedanken.

Bei Dr. Karin Hassenberg und Dr. Oliver Schlüter vom Leibniz Institut für Agrartechnik Bormin bedanke ich mich für die Ozonbehandlung der Eier.

Weiter danke ich bei allen Mitarbeitern von Gut Hesterberg, die mich mit ihrer Hilfe beim zügigen Abschluss der Arbeit unterstützt haben und bei den Mitarbeitern der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Bereich für Experimentelle und Angewandte Physiologie der Haut, die mir die Arbeit an den Versuchen verschönert haben.

Mein inniger und herzlicher Dank gilt meiner Familie: besonders meinem Verlobten Dr. med. Gregor Schäfer, der mich bestärkt hat den Weg einer Promotion einzuschlagen und der mir durch seine Unterstützung Vertrauen und Kraft gegeben hat, stets an den Erfolg meiner Promotion zu glauben und meinen Eltern, die mir die entscheidenden Freiräume und die ausschlaggebende Unterstützung gewährt haben, die für das Gelingen meiner Promotion notwendig waren. Ohne meine Familie hätte ich es nicht geschafft diesen Weg zu gehen.
